

# UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
Departamento de Química Analítica



## TESIS DOCTORAL

**Desarrollos analíticos basados en la técnica GCxGC en el campo del  
refino**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Kristina Lissitsyna Varlamova**

Directores

Luis M<sup>a</sup> Polo Díez  
Sonia Huertas de la Torre

**Madrid, 2014**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

Departamento de Química Analítica



**DESARROLLOS ANALÍTICOS BASADOS  
EN LA TÉCNICA GC×GC EN EL CAMPO DEL REFINO**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Kristina Lissitsyna Varlamova**

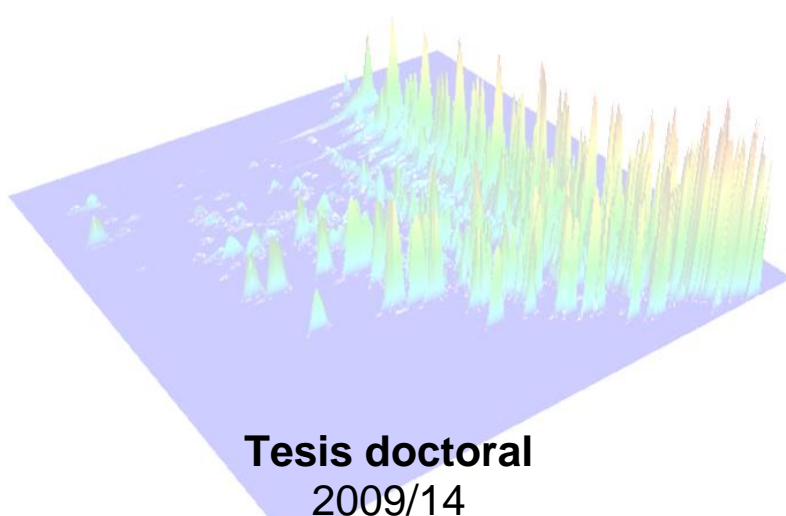
**Directores:**

Luis M<sup>a</sup> Polo Díez  
Sonia Huertas de la Torre

**Madrid, 2014**



# **DESARROLLOS ANALÍTICOS BASADOS EN LA TÉCNICA GC×GC EN EL CAMPO DEL REFINO**



**Tesis doctoral**  
2009/14  
Kristina Lissitsyna Varlamova

**Directores:**  
Luis M<sup>a</sup> Polo Díez  
Sonia Huertas de la Torre

**Lugar de realización del trabajo:**  
Centro Tecnológico de Repsol  
Convenio REPSOL-UCM





## Agradecimientos

El presente trabajo ha sido realizado en el Departamento de Tecnologías Analíticas ubicado en el Centro Tecnológico de Repsol S.A., bajo la dirección del Catedrático Luis M. Polo Díez y la Doctora Sonia Huertas de la Torre.

La realización de una tesis no sólo depende del esfuerzo de uno mismo, sin el apoyo y ayuda de otras personas llevar a término un trabajo tan largo y difícil resultaría imposible. Por ello quisiera agradecer y reconocer en estas líneas a todas aquellas personas que me han acompañado durante este largo camino y que al aportar su pequeño y valioso granito de arena han hecho posible este trabajo.

En primer lugar, agradezco profundamente a mis directores de la tesis, el Catedrático Luis M. Polo Díez y la Doctora Sonia Huertas de la Torre, por su dedicación y esfuerzo. Me habéis dado la base para investigar y la libertad para innovar. Asimismo quiero agradecer especialmente a Luis Carlos Quintero Toscano que confió y creyó en mí para la realización de esta tesis y que, al igual que Luis M. Polo o Sonia Huertas, ha sido un gran pilar para mí al haberme guiado y aconsejado sabiamente. Gracias a vosotros finalmente esta tesis ha podido convertirse en realidad.

Asimismo agradezco a Repsol S.A. que, a través de una colaboración con la Universidad Complutense de Madrid, me concedió la beca predoctoral durante cuatro años, lo que me ha dado la oportunidad de adquirir numerosos conocimientos y experiencia laboral.

También merecen un cariñoso reconocimiento todos mis compañeros del Departamento de Tecnologías Analíticas de Repsol S.A. Me habéis acogido cálidamente y me habéis servido de soporte técnico, pero principalmente humano. En especial gracias a Jose Carlos por ser mi consejero espiritual, a Rocío por contagiarme su vitalidad, a Antonio por sacarme siempre una sonrisa, a Paco Martín cuya bajita voz susurra grandes verdades o a Paco Gómez por volverme loca al esconder mis cosas. Gracias al resto de mis compañeros de laboratorio: Jose Luis, Isabel, Octavio, Carolina, Virginia, Ángel, Enrique, Carmen, Miguel, Roberto, Pepe, Monje, Nuria, Romualdo, Irene, Montse, Mercedes, Javier y Juan Miguel, porque hemos compartido risas, comidas y momentos geniales como los San Viernes. No quiero olvidarme

de los becarios y becarias que han pasado por el laboratorio: Marta, Alba, Silvia, Jesús, Damián, Isabel,...que aportaban frescura e ilusión por trabajar.

Mi agradecimiento también a la empresa LECO, en especial a Leticia García, Jose M. del Rio y Ralf Löscher por su soporte técnico y por haberme dado la oportunidad de realizar una estancia en Alemania durante la cual pude ampliar mis conocimientos en avanzadas técnicas analíticas. Asimismo quiero agradecer a mis compañeros Wibke, Frank, Jürgen y Sjaak de los laboratorios de LECO en Mönchengladbach y al Profesor Ralf Zimmermann de Helmholtz en Munich y a su equipo de trabajo Jutta, Thomas, Marion, Beate, Aimée y en especial a Saray que hizo muy bien de anfitriona y me ayudó a conocer mejor a los alemanes.

Lo que respecta al ámbito personal, quiero agradecer a mi familia que no ha dudado de mí capacidad para realizar la tesis y por intentar comprender mis trabajos de investigación. En especial, a mi padre que fue quien me animó a no estancarme en la vida y a seguir creciendo como científica.

Para terminar quiero agradecer a mi pareja Edu, que ha sabido soportar y comprender mis largas ausencias durante la tesis y durante la carrera. Gracias por ofrecerme tu hombro en los momentos difíciles y compartir la alegría en los éxitos.

*A todos vosotros, gracias.*

# Índice

<b>ABSTRACT.....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>15</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>21</b>
<b>LISTA DE TABLAS .....</b>	<b>26</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS .....</b>	<b>29</b>
<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>33</b>
<b>CAPÍTULO 2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>39</b>
2.1.    PRINCIPIOS DE LA TÉCNICA GC×GC .....	41
2.1.1.    Columnas .....	47
2.1.2.    Modulación .....	48
2.1.2.1.    Tipo de moduladores .....	51
2.1.3.    Detectores .....	57
2.1.3.1.    Detector de ionización de llama (FID) .....	58
2.1.3.2.    Espectrometría de Masas (sistema analizador: cuadrupolo (qMS), tiempo de vuelo (TOF)) .....	58
2.1.3.3.    Detector de quimioluminiscencia de nitrógeno (NCD) y azufre (SCD) .....	59
2.1.3.4.    Detector de captura electrónica (ECD) .....	60
2.1.4.    Obtención y visualización de cromatogramas .....	61
2.1.5.    Identificación.....	63
2.1.6.    Cuantificación .....	64
2.1.7.    Herramientas quimiométricas .....	65
2.2.    APLICACIONES DE LA TÉCNICA GC×GC EN REFINO.....	67
<b>CAPÍTULO 3. INSTRUMENTACIÓN ANALÍTICA .....</b>	<b>73</b>
<b>CAPÍTULO 4. DETERMINACIÓN DE TRAZAS DE FAME EN QUEROSENO DE AVIACIÓN .....</b>	<b>75</b>
4.1.    INTRODUCCIÓN .....	75
4.2.    PARTE EXPERIMENTAL.....	79
4.2.1.    Patrones .....	79
4.2.2.    Preparación de patrones. Curvas de calibrado .....	79
4.2.3.    Muestras .....	79
4.2.4.    Sistemas cromatográficos.....	80
4.2.4.1.    GC-MS .....	80
4.2.4.2.    GC×GC .....	80
4.3.    RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	80
4.3.1.    Elección de columnas cromatográficas para el sistema GC×GC.....	80
4.3.2.    Optimización de las condiciones cromatográficas GC×GC.....	83
4.3.3.    Validación del método: Comparación con método de referencia.....	87
4.3.4.    Análisis de muestra mediante GC×GC-FID y GC-MS .....	88
4.3.5.    Estudio estadístico .....	90
4.3.6.    Determinación de FAME en gasóleo. Modificación del método.....	92
4.4.    CONCLUSIONES.....	97
<b>CAPITULO 5. ANÁLISIS PI(ON)A EN DESTILADOS MEDIOS.....</b>	<b>99</b>

5.1.	INTRODUCCIÓN .....	99
5.2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	101
5.2.1.	<i>Muestras</i> .....	101
5.2.2.	<i>Sistema cromatográfico</i> .....	102
5.2.3.	<i>Métodos de referencia</i> .....	102
5.2.3.1.	Determinación del contenido en aromáticos.....	102
5.2.3.2.	Determinación del contenido en n-parafinas. ....	102
5.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	103
5.3.1.	<i>Elección de columnas cromatográficas para el sistema GC×GC-TOFMS</i> .....	103
5.3.2.	<i>Optimización de condiciones cromatográficas GC×GC</i> .....	106
5.3.3.	<i>Análisis cualitativo de muestras de queroseno</i> .....	107
5.3.4.	<i>Análisis semicuantitativo de muestras de queroseno</i> .....	112
5.3.5.	<i>Validación del método desarrollado: Comparación con métodos ASTM</i> .....	116
5.3.6.	<i>Estudio del fraccionamiento de destilados medios</i> .....	118
5.3.6.1.	Acondicionamiento de la columna HPLC .....	119
5.3.6.2.	Desarrollo experimental .....	119
5.3.6.3.	Optimización del método.....	123
5.4.	CONCLUSIONES.....	126
<b>CAPITULO 6. ESPECIACIÓN DE COMPUESTOS NITROGENADOS EN DESTILADOS MEDIOS .....</b>		<b>129</b>
6.1.	INTRODUCCIÓN .....	129
6.2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	131
6.2.1.	<i>Patrones</i> .....	131
6.2.2.	<i>Preparación de patrones</i> .....	132
6.2.3.	<i>Muestras</i> .....	133
6.2.4.	<i>Preparación de muestras</i> .....	133
6.2.5.	<i>Contenido total de nitrógeno</i> .....	133
6.2.6.	<i>Sistema cromatográfico</i> .....	133
6.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	135
6.3.1.	<i>Elección de columnas cromatográficas para el sistema GC×GC</i> .....	135
6.3.2.	<i>Optimización de condiciones para el GC×GC-TOFMS/NCD</i> .....	138
6.3.3.	<i>Fraccionamiento de compuestos nitrogenados con SPE</i> .....	138
6.3.4.	<i>Evaluación del detector NCD</i> .....	141
6.3.5.	<i>Validación de método desarrollado: Comparación con métodos ASTM</i> .....	141
6.3.6.	<i>Análisis cuantitativo</i> .....	142
6.3.7.	<i>Identificación de otros compuestos nitrogenados</i> .....	144
6.4.	CONCLUSIONES.....	145
<b>CAPITULO 7. CUANTIFICACIÓN DEL ADITIVO DESACTIVADOR DE METALES EN GASÓLEOS .....</b>		<b>147</b>
7.1.	INTRODUCCIÓN .....	147
7.2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	149
7.2.1.	<i>Patrones</i> .....	149
7.2.2.	<i>Preparación de patrones</i> .....	149
7.2.3.	<i>Muestras</i> .....	150
7.2.4.	<i>Derivatización de MDA</i> .....	150
7.2.5.	<i>Sistema cromatográfico</i> .....	150
7.2.5.1.	GC-MS .....	150

7.2.5.2.	GC-NCD .....	150
7.2.5.3.	GC×GC-NCD.....	151
7.3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	151
7.3.1.	<i>Elección de sistemas cromatográficos</i> .....	151
7.3.1.1.	GC-MS .....	151
7.3.1.2.	GC-NCD .....	152
7.3.1.3.	GC×GC-NCD.....	153
7.3.2.	<i>Validación del método desarrollado</i> .....	157
7.3.3.	<i>Análisis de muestras</i> .....	157
7.3.4.	<i>Influencia del MDA sobre el contenido de cobre</i> .....	159
7.4.	CONCLUSIONES.....	160
<b>CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES</b> .....		<b>161</b>
<b>CAPÍTULO 9. SUGERENCIAS PARA TRABAJOS FUTUROS</b> .....		<b>163</b>
<b>PUBLICACIONES</b> .....		<b>165</b>
<b>ANEXO</b> .....		<b>191</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....		<b>197</b>



**COMPLUTENSE UNIVERSITY OF MADRID**

**FACULTY OF CHEMISTRY**

Analytical Chemistry Department



**ANALYTICAL DEVELOPMENTS BASED ON THE  
GC×GC TECHNIQUE IN THE REFINING**

**Kristina Lissitsyna Varlamova**

**Supervisors:**

Luis M<sup>a</sup> Polo Díez  
Sonia Huertas de la Torre

**Madrid, 2014**



## Abstract

Crude oil is considered one of the most important raw material and it is the main energy source in the world. Crude oils are complex mixtures of thousands of different organic compounds ranging from smaller volatile compounds to very large non-volatile compounds. They comprise a diversity range of different organic compounds formed from a variety of organic materials that are chemically converted under differing geological conditions under layers of mud, sand and/or rock over millions of years from the remains of aquatic plants and animals that lived in ancient seas. The infinite variable nature of these factors results in distinct chemical differences between oils. Thus, all crude oils and petroleum products, to some extent, have chemical compositions that differ from each other. This variability in chemical compositions results in unique chemical 'fingerprints' for each oil and provides a basis for identifying the sources of oil, and can therefore be employed for characterisation of spilled oil [1].

Crude oils are composed primarily of hydrogen and carbon, (which form a wide range of hydrocarbons from light gases to heavy residues) and are therefore the main elements in the matrix. It also contains smaller amounts of sulphur, oxygen and nitrogen as well as metals such as nickel, vanadium and iron.

The main hydrocarbon structure found in oils are the saturates, olefins, aromatics and polar compounds. Saturate group comprised primarily of alkanes, which are the main components of crude oils. This group also includes cyclic alkanes, which present the same carbon and hydrogen number, but they form cyclic structures.

The aromatic compounds include: small and volatile compounds such as benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes as well as bigger molecules consisting of at least two benzene rings such as naphthalenes, phenanthrene, pyrene etc, which also are relatively abundant in oils.

Polar compounds are those that have a significant molecular charge as a result of bonding with compounds such as sulphur, nitrogen or oxygen. The sulphur compounds are considered the most important due to their large amount.

It is also noteworthy the presence in the oil of specific compounds with a high molecular weight composed of carbon, hydrocarbon and some polar atoms. These compounds are

called asphaltenes. Its structure is very complex and consists of 10 to 20 rings with side chains of aliphatic and naphthenic hydrocarbons. These compounds can be cause flow assurance problems that arise at different points during the extraction or treatment in refineries to be solids that clog pipelines or deactivated catalysts.

In the petrochemical industry there is a continuous effort to develop analytical techniques for petroleum products characterization. In order to understand kinetic aspects of the processes that are used or to relate the product composition with its properties, it is necessary a conclusive characterization of petrochemical samples. This type of sampling is very complex since it may contain thousands of components and there is no a chromatographic technique that is capable of completely separating all compounds in the sample. The analysis of these complex samples becomes also a challenge when the number of compounds is very high or the analytes are presented at trace levels. Traditional one-dimensional chromatographic techniques, such as gas or liquid chromatography, often fail to separate target compounds and therefore it is not achieved a correct identification and quantification.

Two-dimensional gas chromatography (GC  $\times$  GC or Comprehensive two dimensional gas chromatography) is a very powerful separation technique. It appeared in the early 1990s [2] and since then it has demonstrated its great separation power, which allows the study of very complex samples. Its principle of separation is based on the use of two columns with different stationary phases, giving rise to an orthogonal system by which compounds are subject to two independent mechanisms of separation. The columns are connected in series by a modulator, a device that focuses and subsequently transfers fractions of the effluent from the first column to the second one. Due to the refocusing process during the modulation operation, system sensitivity is enhanced. Moreover, the combination of two columns increases peak capacity as it is considered that the technique provides  $n_1 \times n_2$  peak capacity where  $n_1$  and  $n_2$  are the peak capacities of the first and the second column, respectively. Thus, the greater resolution and enhanced sensitivity of the GC $\times$ GC technique offer a unique capability for the analysis of extremely complex mixtures. Moreover, unlike other multidimensional systems, in GC  $\times$  GC technique the whole sample is subjected to two separation processes and not only a few fractions.

Separation in the second column is extremely fast, taking only 1–10 s as against 45–120 min for the first dimension separation. The fast separation in the second dimension gives rise to very narrow peaks (100–600 ms at the baseline) [3] [4], which require fast detectors in order to reconstruct the second dimension chromatograms properly. GC×GC has been coupled to detectors such as  $\mu$ ECD [5], qMS [6], AED [7], SCD [8] and FID [9]. However, time of flight mass spectrometer (TOFMS) has been the preferred detector owing to its high-acquisition rate and identification power for the analysis of petrochemical samples [10]. Although TOFMS has also been used for quantification [11], normally, it was first employed as a chemical identification tool and quantification was further done using a FID detector due to its greater dynamic linear range and similar response factor for the same chemical class of compounds [12]. Recently, the advantages of GC×GC hyphenated to NCD for the analysis of nitrogen compounds in diesel samples have been described [13]. It was found that the detector is fast enough to be used for GC×GC applications and it appeared that NCD offers decisive advantages in terms of selectivity, sensitivity, linearity and equimolarity [14].

This research work consisted in the application of multidimensional gas chromatography, GC × GC, for the development of various analytical methods in the field of Refining. Today GC × GC chromatography has become an indispensable analytical tool in the petrochemical industry, and due to its great potential, valuable information about petrochemical samples can be achieved. This work explains the development of four analytical methods that have been published in several international scientific journals and which dealt with some important issues in the field of Refining.

- *Determination of Trace Levels of Fatty Acid Methyl Esters in Aviation Fuel by GC×GC-FID and Comparison with the Reference GC-MS Method*

As a result of the growing interest in improving the emission profile of ground and aviation transportation, new fuels have been developed. Biodiesel is a widely accepted alternative fuel for diesel engines due to its technical and environmental advantages [15]. It is obtained by transesterification reactions of vegetable oils or animal fats to give the fatty acid methyl esters (FAME). However, FAME is a surface-active material able to adhere to container and pipe walls; this could give rise to cross-contamination of products such as kerosene, which come in contact with these surfaces. At sufficiently high concentrations, FAME can affect the thermal stability of the fuel, which could cause coke deposits in the fuel system leading to engine failure. FAME can also affect the freezing point of jet fuel resulting in gelling of the fuel. This has raised a concern with airlines and engine manufacturers. The use of aviation jet fuel containing less than 5 ppm (5 mg·kg<sup>-1</sup>) has been approved [16]. However, a recent study carried out by the aviation fuel industry Energy Institute indicates that jet fuel containing up to 30 ppm of FAME does not involve risks to flight safety [17]. The determination of low levels of FAME in kerosene is quite difficult due to the complexity of the sample. FAME can be determined by the reference IP PM-DY/09 method [18](the new version is IP 585/10 [19]) by one-dimensional GC-MS using selective ion monitoring/scan acquisition methods. The quality of GC-MS analysis in full scan mode often suffers due to coelution of compounds in complex samples; therefore, it is necessary to work with a selective ion monitoring (SIM) acquisition method to determine low levels of FAME. However, comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) provides a two dimensional separation where the entire sample is separated on two columns having different polarities and should provide enough FAME resolution [20] [21]. Comprehensive two-dimensional gas chromatography in combination with FID was considered as a suitable technique for detecting low levels of FAME in jet fuel in the Def Standard 91-91 [16] in which a method developed by Shell Research Ltd (RTS Report GS.06.50289) was mentioned. However, as far as we know, there is not a published method for this analysis.

In this work, a GC×GC-FID method was developed for the characterization and quantitation of FAME in kerosene at low levels and compared with the reference method IP

PM-YD/09. A reverse phase column set was used (a polar first column and a non-polar second column). Firstly, a GC×GC-TOFMS (time of flight mass spectrometer) method was optimized and then slightly modified and refined to get the proposed GC×GC-FID method because this detector is more convenient for routine analysis. Identification of fatty acid methyl esters was based on retention times and the external standard calibration was used for quantitation. Finally, the method was validated and good recoveries, close to 100%, and limit of detection in a range from 3 to 6  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  were found without requiring a specific detector. Moreover, six free FAME kerosene samples were spiked with different FAME concentrations, analysed by the GC×GC-FID method and results were compared with those obtained from the GC-MS reference method. ANOVA analysis demonstrated that the results obtained by developed method were significantly more precise than those obtained by the reference one.

Using a two dimensional separation the FAME species did not coelute with hydrocarbon matrix. Therefore, despite the lack of selectivity of the FID, accurate identification of the target analytes was achieved and selected ion monitoring was not necessary. Also, the GC×GC-FID analysis proved to be faster than the GC-MS analysis. However, the data processing may be more complex in GC×GC than in 1D-GC as the modulated peaks frequently need manual adjustments, which can increase the analysis time; therefore, in GC×GC personnel are required to be more skilled. On the other hand, a FID detector requires simpler maintenance and it is considered more robust than an MS detector. Regarding the cost of the instrument, a GC×GC-FID may be cheaper than a GC-MS, especially when a flow modulator is used, as no additional consumables are required. In contrast, thermal modulation, due to the use of large amounts of liquid cryogen, raises the analysis cost. Therefore, the developed method can be recommended for the FAME analysis in kerosene when the GC×GC-FID is available.

- *PIONA analysis of kerosene by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time of flight mass spectrometry*

Detailed hydrocarbon analysis of petrochemical samples has great importance in the petrochemical industry. It allows a correct characterization of samples to predict their behavior in further processing and applications. There are numerous methods able to

characterize petrochemical samples providing detailed information. In particular, the ASTM D2425 [22] provides the content (expressed in mass percentage) of eleven hydrocarbon families in middle distillates. According to this method, mass fragments and molecular ions of a hydrocarbon family are summed and used to calculate concentrations from matrix coefficients, which depend on carbon number. However, samples must be previously separated into saturate and aromatic fractions by test method D2549 [23], and then each fraction is analysed by mass spectrometry.

The so-called PIONA analyzers are based on the use of a standardized gas-chromatography technique to determine n-paraffins, iso-paraffins, olefins, naphthenes and aromatics in gasoline and petroleum naphtha containing hydrocarbons having boiling points between -42 and 216 °C [24]; its operation principle is based on a combination of traps for hydrocarbons with a similar functional group, separating columns and a hydrogenator for olefins. However, the main disadvantage is that this PIONA analyser is limited to hydrocarbons with boiling points below 200°C, corresponding to compounds containing a carbon number around C<sub>11</sub>. More recently, GC×GC has been applied to the analysis of heavier cuts (middle distillates) [25], especially due to its high peak capacity, resolution power and high sensitivity, which are obtained by combining two chromatographic columns in contrast to one-dimensional gas chromatography [14] [26]. GC×GC analysis of petrochemical products is normally performed using a flame ionisation detector (FID) or a time of flight mass spectrometer (TOFMS) [6] [10] [12]. As petrochemical products consist of thousands of compounds, FID is considered to be the most suitable detector for routine and quantitative hydrocarbon analysis because it is assumed that all compounds have similar response factors when they belong to the same compound class. Commonly, TOFMS is used when structural information is required to enable unambiguous identification, since it offers higher data acquisition speed, selectivity and deconvolution tools [20]. However, for quantitative analysis, TOFMS is not suitable because it is necessary to determine the response factor of each compound and this is not feasible due to the lack of standards. On the other hand, FID has lower sensitivity for heteroatom compounds in petrochemical products than TOFMS making the analysis difficult at trace concentration levels [27] [28]; hence, in order to obtain a detailed analysis it is usually necessary to analyse the sample twice by GC×GC (using both FID and TOFMS). This is time-consuming and, moreover, the

lack of selectivity of FID leads to an incorrect compound identification, especially when samples are very complex. In particular, kerosene samples contain a large number of aliphatic compounds which make a good chromatographic separation between paraffins and naphthenes difficult to achieve. Recently, F. Adam et al. [29] have implemented a chiral permethylated cyclodextrin column as a second dimension column in order to improve selectivity between naphthenes and paraffins. However, besides the well-known limitations of chiral columns, such as their high cost and low maximum operating temperature (200°C) [30], the ability of these columns to discriminate naphthenes from paraffins is limited to compounds up to 15 carbon atoms. Therefore, detectors that offer structural identification are very necessary in petrochemical analysis in order to achieve correct compound assignment. Recent studies [31] [32] have used scripts in order to locate and identify sample compounds. Scripts are functions, written in VB language, that allow identification of compounds according to their mass spectra; this greatly facilitates compound detection in complex samples.

Owing to the high resolution power, enhanced sensitivity and chemical identification of GC×GC-TOFMS, the work dealt with the development of a method to determine and semiquantify n-paraffins, iso-paraffins, olefins-naphthenes and aromatics (PIO-NA) in kerosene samples by GC×GC-TOFMS. The developed GC×GC-TOFMS method enabled a more accurate identification than the established GC×GC-FID one because the identification of the thousands of compounds contained in petrochemical samples were performed not only by retention times but also by mass spectra. This compound identification was based on *Scripting* (Visual Basic programming), which establishes rules for filtering spectral data to locate compounds having defined spectral properties of a particular compound class. This tool involves a significant reduction of analysis time for very complex samples and it was possible to distinguish the mononaphthene, dinaphthene and aromatic families. Furthermore, aromatics such as alkylbenzenes, benzonaphthenes, dinaphtobenzenes, naphthalenes or biphenyls were also able to be identified and semiquantified. Therefore, it can be concluded that scripts may be a useful tool to filter and classify compounds present in complex samples. Semiquantification of compound families was performed by adding the areas of the characteristic mass fragments of each compound class and their respective molecular ions.

To verify the reliability of the method, samples were also analysed by reference methods and good concordances were found between the obtained results. The kerosene samples for analysis were produced by different conversion processes such as catalytic reforming, alkylation, catalytic cracking and hydroprocessing depending on the kerosene distillation process.

Consequently, the proposed method by GC×GC-TOFMS could be a good approach to achieve a PIONA analysis, at least for kerosene samples. Moreover, this method showed to be very useful in petroleum industry and it could be implemented to analyse other middle distillates.

- *Novel simple method for quantitation of nitrogen compounds in middle distillates using solid phase extraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography*

Nitrogen-containing compounds that occur in crude oil adversely affect many of the important petroleum processes such as hydrocracking and hydrotreating; for instance, due to their polarity and basicity, these compounds may poison catalysts used in hydrocracking, catalytic cracking and reforming, through interactions with acid sites of catalysts. In addition, although nitrogen-compounds (N-compounds) are present in low concentrations in typical feedstocks, they have a negative influence on product stability [33] [34]. Moreover, these compounds often have carcinogenic and mutagenic activities [35] and they are precursors of nitrogen oxides, which are responsible for air pollution [36].

Most of nitrogen that occurs in petroleum is present as organic compounds, mainly as multiple aromatic heterocyclic rings. The N-compounds have been classified into two different groups; neutral and basic. Basic N-compounds usually cover pyridines, quinolines and acridines, while neutral nitrogen species include pyrroles, indoles, carbazoles and benzocarbazoles. The current economic and oil reserve conditions worldwide have increased the necessity of processing heavy oils with a much higher nitrogen content. Therefore, detailed knowledge of the type and concentration of N-compounds present in petroleum products is clearly needed to optimize the hydrodenitrogenation process (HDN) in order to improve nitrogen elimination in middle distillates. Moreover, the low reactivity of nitrogen makes HDN the most challenging hydrotreatment reaction, while the high reactivity of the N-compounds inhibits the hydrodesulphurization (HDS) process [37] [38].



Gas chromatography (GC) hyphenated with specific detectors has been widely used for the speciation of N-compounds in middle distillates. Detectors such as atomic emission (AED) [39] or mass spectrometry (MS) [28] [40] have been widely used to determine hetero-atoms containing compounds, as they have enough sensitivity to detect low concentration levels in complex samples. However, owing to their high sensitivity and selectivity, nitrogen chemiluminescence (NCD) and nitrogen phosphorus detectors (NPD) have been the most widely used for nitrogen speciation [41]. The main advantage offered by the NCD compared to the AED, MS and NPD is that the response to nitrogen compounds is equimolar [42] [43]; therefore, quantification of the N-compounds is found to be easier since it is not necessary to have all the standards.

Recent studies in characterization of N-compounds in fuel have demonstrated the advantages of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) over conventional gas chromatography. GC×GC accomplishes better separations than GC, reducing the peak overlapping of N-compounds that occurs in diesel samples [14] and therefore achieving better identifications and quantifications. However, despite the great resolution of GC×GC, fractionation of the nitrogen species is still necessary because of the overlapping of some nitrogen families. Usually the N-compounds are separated into basic and neutral types. However, for complex samples this separation is not enough as pyridines, anilines, quinolines and acridines overlap in the basic fraction.

In this study, a simple and reliable method to identify and quantify organic N-compounds that occur in middle distillates has been developed. It is based on an extraction of nitrogen compounds from the hydrocarbon matrix followed by their fractionation using solid phase extraction in order to separate specific nitrogen families, which overlap even in GC×GC chromatography. Two fractions were collected: the first one contained anilines, indoles and carbazoles and the second one contained pyridines, quinolines and acridines.

In the first part of this study, both first and second dimension columns used in GC×GC were optimized. Then, optimization of the SPE fractionation is described, underlining the advantages of SPE over other separation techniques. Finally, N-compounds were determined in different samples and the results obtained for total N content were compared with those found by the ASTM-4629 reference method. A good agreement for

total nitrogen content was found between both methods; hence reliability of the method was confirmed.

This method may be useful in petroleum industry because it is possible to know the distribution and the content of the organic N-compounds, which are present in a great variety of middle distillates with different final distillation points and with different nitrogen species and concentrations. Furthermore, the proposed method covers the typical nitrogen levels (from 20 to 1000 mg·L<sup>-1</sup> total N) found in middle distillates; thus, the versatility of the technique allows its application for lighter or heavier distillates.

- *Quantitation method of N,N'-disalicylidene-1,2-propanediamine in diesel by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to a nitrogen chemiluminescence detector*

Additive packages are needed in order to improve fuel properties. These packages are commonly formed by oxidant, corrosive and foam inhibitors, detergents, and dispersants, which are able to stabilize fuel and prevent its corrosion and remove or prevent the formation of engine deposits. Dispersants, in particular, are used in engine oils to prevent coagulation of carbon deposits which might block fuel flow since they help to stabilize small colloidal particles. On the other hand, metal deactivator additives are used to inhibit metal catalyzed fuel oxidation reactions in petroleum samples, since trace metals such as copper, cadmium, iron, cobalt and zinc, both in the fuel and on surfaces may have a negative impact on thermal and storage stability [44]. One of the first metal deactivator used was the N,N'-disalicylidene-1,2-propanediamine (commonly referred to as MDA). In previously reported works, the beneficial effects of MDA on fuel thermal stability have been demonstrated [45]. The chemistry of how this additive is thought to work is related to its chemical structure; the molecule contains two amine and two phenol groups, and due to these functional groups, MDA interacts very strongly with metal ions and inhibits fuel oxidation. Hence, three primary actions are attributed to MDA: chelation, surface passivation and bulk phase reactivity [46].

Additives used to improve fuel properties can be added individually or in packages. In fact, the effect of some additives on fuel has already been described, both when they were

introduced individually or in combination with other additives [47]. These studies demonstrated that some additive combinations could be more beneficial than any individual additive since some additive mixtures caused greatest auto-oxidation inhibition.

Knowing the MDA concentration in middle distillates may be useful because it could lead to a clearer understanding MDA behaviour towards metals. It indicates how much of it will be complexed by metals and therefore may allow improving fuel properties by adding the right amount of MDA. Striebich et al [48] have proposed a quantitative method for MDA determination in aviation fuel based on gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The analysis required MDA derivatization using a silylation reagent; the 220 and 235 mass ions were chosen for quantitation as they were abundant in silylated MDA.

The aim of this study was to develop a novel and reliable method to identify and quantify MDA in diesel by GC×GC-NCD after a derivatization step with BSTFA. The measured MDA is free in solution i.e. not complexed with metals. The first part of this paper deals with the evaluation of GC-MS and GC-NCD methods in order to establish their suitability for MDA measurement in diesels. In the second part, the chromatographic conditions of the method, based on GC×GC-NCD, were optimized. Finally, the developed method was validated showing its reliability to determine MDA concentration in the range usually present in diesel samples.

In this work, it has been demonstrated that GC×GC is a powerful and versatile technique, which can overcome problems encountered in conventional gas chromatography. Indeed, in contrast to GC-MS and GC-NCD, the two dimensional separation avoided MDA overlapping with the sample matrix achieving accurate results through optimization of the modulation period.

## References

- [1] Z. Wang, M. Fingas y D. Page, *Journal of Chromatography A*, vol. 843, pp. 369-411, 1999.
- [2] J. B. Phillips y K. Liu, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 29, pp. 227-231, 1991.
- [3] J. Beens, M. Adahchour, R. Vreuls, K. van Altena y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 919, pp. 127-132, 2001.
- [4] E. Kristenson, P. Korytar, C. Danielsson, M. Kallio, M. Brandt, J. Mäkelä, R. Vreuls, J. Beens y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 65-77, 2003.
- [5] P. Korytar, P. Leonards, J. Boer y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 958, pp. 203-218, 2002.
- [6] H. Weghe, G. Vanermen, J. Gemoets, R. Lookman y D. Bertels, *Journal of Chromatography A*, vol. 1137, pp. 91-100, 2006.
- [7] L. Stee, J. Beens, R. Vreuls y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 89-99, 2003.
- [8] R. Hua, Y. Li, W. Liu, J. Zheng, H. Wei, J. Wang, X. Lu, H. Kong y G. Xu, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 101-109, 2003.
- [9] G. Frysinger y R. Gaines, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 23, pp. 197-201, 2000.
- [10] R. van der Westhuizen, M. Ajama, P. de Coninga, J. Beens, A. de Villiers y P. Sandra, *Journal of Chromatography A*, vol. 1218, pp. 4478-4486, 2011.
- [11] S. Song, P. Marriott, A. Kotsos, O. Drummer y P. Wynne, *Forensic Science International*, vol. 143, pp. 87-101, 2004.
- [12] C. Vendevre, R. Ruiz-Guerrero, F. Bertoncini, L. Duval, D. Thiébaud y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1086, pp. 21-28, 2005.
- [13] F. Wang, W. Robbins y M. Greaney, *Journal of Separation Science*, vol. 27, pp. 468-472, 2004.
- [14] F. Adam, F. Bertoncini, N. Brodusch, E. Durand, D. Thiébaud, D. Espinat y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1148, pp. 55-64, 2007.
- [15] F. Ma y M. Hanna, *Bioresource Technology*, vol. 70, pp. 1-15, 1999.
- [16] M. o. Defence, «Defence Standard 91-91,6,» 2008.
- [17] «Special Airworthiness information bulletin 4,» 2009.
- [18] I. PM-DY/09, «Determination of fatty acid methyl esters, derived from bio-diesel fuel, in aviation turbine fuel- GC-MS with selective ion monitoring/scan detection method».
- [19] I. 585/10, «Determination of fatty acid methyl esters, derived from bio-diesel fuel, in aviation turbine fuel- GC-MS with selective ion monitoring/scan detection method».
- [20] J. Dallüge, R. Vreuls, J. Beens y U. Brinkman, *Journal of Separation Science*, vol. 25, pp. 201-214, 2002.
- [21] P. Schoenmakers, J. Oomen, J. Blomberg, W. Genuit y G. van Velzen, *Journal of Chromatography A*, vol. 892, pp. 29-46, 2000.
- [22] ASTM D2425, *Standard Test Method for Hydrocarbon Types in Middle Distillates by Mass Spectrometry*.
- [23] ASTM D2549, *Test Method for Separation of Representative Aromatics and Non-aromatics fractions of high-boiling Oils by eluticon Chromatography*.

- [24] P. van Arkel, J. Beens, H. Spaas, D. Gruttererink y R. Verbek, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 25, p. 141, 1987.
- [25] J. Beens, J. Blomberg y P. Schoenmakers, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 23, pp. 182-188, 2000.
- [26] C. Vendevre, F. Bertoncini, L. Duval, J. Duplan, D. Thiebaut y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1056, pp. 155-162, 2004.
- [27] Y. Briker, Z. Ring, A. Iacchelli y N. McLean, *Fuel*, vol. 82, pp. 1621-1631, 2003.
- [28] X. Cheng, T. Zhao, X. Fu y Z. Hu, *Fuel Processing Technology*, vol. 85, pp. 1463-1472, 2004.
- [29] F. Adam, C. Vendevre, F. Bertoncini, D. Thiebaut, D. Espinat y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1178, pp. 171-177, 2008.
- [30] T. Beesley, *LCGC North America*, vol. 29/7, 2011.
- [31] J. de Vos, R. Dixon, G. Vermeulen, P. Gorst-Allman, J. Cochran, E. Rohwer y J. Focant, *Chemosphere*, vol. 82, pp. 1230-1239, 2011.
- [32] L. Vogt, T. Gröger y R. Zimmermann, *Journal of Chromatography A*, vol. 1150, pp. 2-12, 2007.
- [33] M. Dorbon y C. Bernasconi, *Fuel*, vol. 68, pp. 1067-1074, 1989.
- [34] L. Chan y P. Crisp, *Journal of Chromatography*, vol. 292, pp. 355-368, 1984.
- [35] H. Chuen-Huei, B. Clark, M. Guerin, B. Barkenbus, T. Rao y J. Epler, *Mutation Research*, vol. 85, pp. 335-345, 1981.
- [36] R. Brodzinsky, B. Cantrell, R. Endlich y C. Bhumralkar, *Atmospheric Environment*, vol. 18, pp. 2361-2366, 1984.
- [37] P. Zeuthen, K. Knudsen y D. Whitehurst, *Catalysis Today*, vol. 65, pp. 307-314, 2001.
- [38] G. Laredo, J. de los Reyes, J. Cano y J. Castillo, *Applied Catalysis A*, vol. 207, pp. 103-112, 2001.
- [39] P. Wiwel, K. Knudsen, P. Zeuthen y D. Whitehurst, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 39, pp. 533-540, 2000.
- [40] G. Mushrush, E. Beal, D. Hardy y J. Hughes, *Fuel Processing Technology*, vol. 61, pp. 197-210, 1999.
- [41] C. von Mühlen, E. de Oliveira, P. Morrison, C. Zini, E. Caramao y P. Marriott, *Journal of Separation Science*, vol. 30, pp. 3223-3232, 2007.
- [42] B. Chawla, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 35, pp. 97-104, 1997.
- [43] W. Yu, D. Fine, K. Chiu y K. Biemann, *Analytical Chemistry*, vol. 56, pp. 1158-1162, 1984.
- [44] B. Batts y A. Fathoni, *Energy & Fuels*, vol. 5, pp. 2-21, 1991.
- [45] S. Pande y D. Hardy, *Energy & Fuels*, vol. 12, pp. 129-138, 1998.
- [46] A. Waynick, *Energy & Fuels*, vol. 15, pp. 1325-1340, 2001.
- [47] E. Jones, W. Balster y L. Balster, *Journal of Engineering for Gas Turbines and Power*, vol. 119, pp. 830-835, 1997.
- [48] R. Striebig, B. Grinstead y S. Zabarnick, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 38, pp. 393-398, 2000.

## Resumen

La técnica cromatografía de gases bidimensional completa (GC×GC) fue propuesta por primera vez por Phillips en 1991. Desde entonces ha demostrado ser una de las herramientas más poderosas para el análisis de compuestos orgánicos volátiles por su alta resolución, sensibilidad y poder de identificación. Estas propiedades son el resultado directo de la alta capacidad de pico del sistema que se obtiene al combinar dos columnas cromatográficas de diferentes dimensiones y fases estacionarias, lo que da lugar a un sistema prácticamente ortogonal. Todos los componentes de la muestra, a diferencia de otros sistemas bidimensionales, se someten a los dos principios de separación en el sistema. Esto se consigue mediante una interfaz, llamada modulador, que conecta las dos columnas cromatográficas. El modulador se encarga de que los analitos procedentes de la primera columna se transfieran de forma ordenada a la segunda columna. Normalmente la primera columna tiene una fase estacionaria no polar por lo tanto, los compuestos se separan por punto de ebullición, mientras que la segunda columna es mucho más corta y su fase estacionaria es polar, de manera que los compuestos se separan por interacciones específicas con la fase.

Los cromatogramas que se obtienen con esta técnica, al tener dos mecanismos de separación, se representan en dos dimensiones, siendo el eje X la separación en la primera columna y el eje Y la separación en la segunda. Estos cromatogramas presentan una elución estructurada de los compuestos es decir, los compuestos pertenecientes a la misma familia eluyen en la misma zona del cromatograma. Esta característica es la que proporciona el gran poder de identificación de la técnica y que puede incrementarse aún más si al sistema se le acopla un detector espectrométrico de masas.

Al ser esta técnica una variante de la cromatografía de gases, los sistemas de inyección y de detección que se utilizan son los mismos que en la cromatografía de gases convencional. Así, inyectoras *Split/Splitless*, PTV y on-column; o detectores como FID, TOFMS, SCD, NCD o  $\mu$ ECD se han acoplado normalmente al sistema GC×GC.

La industria petroquímica fue uno de los primeros campos de aplicación de la técnica GC×GC. Por las propiedades que ofrece dicha técnica, resulta fundamental para el análisis de muestras complejas; por consiguiente, su implementación supuso una revolución en el

análisis de muestras de petróleo. Este tipo de muestras son muy complejas, ya que pueden contener varios miles de compuestos que no pueden ser separados por cromatografía unidimensional y además, los compuestos de interés pueden encontrarse tanto en grandes cantidades como a niveles traza. Gracias a la técnica GC×GC se ha conseguido caracterizar de forma detallada estas muestras tan complejas y se han realizado análisis tanto cualitativos como cuantitativos aplicados a la industria petroquímica que han demostrado el gran potencial que ofrece dicha técnica.

Por consiguiente, el objetivo de este trabajo de investigación consistió en la aplicación de la cromatografía GC×GC para el desarrollo de diversos métodos analíticos en el campo de Refino. Se consideró que la cromatografía GC×GC resulta actualmente una herramienta analítica indispensable en la industria petroquímica y gracias a su gran potencial se puede obtener mucha información muy valiosa de las muestras petroquímicas, de gran importancia para la petroquímica.

En este trabajo se explica el desarrollo de cuatro métodos analíticos que han sido publicados en diversas revistas científicas internacionales. Los cuatro métodos se desarrollaron con el propósito de responder a algunas necesidades importantes en el campo de Refino.

Debido al impacto negativo que supone la presencia de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) en querosenos que se emplean como combustible de aviación, en el primer trabajo, se desarrolló un método mediante la cromatografía de gases bidimensional acoplada a un detector de ionización de llama para la determinación de niveles traza de FAME en queroseno de aviación. Gracias a las ventajas que presenta el sistema GC×GC, el método desarrollado puede ser una buena alternativa al método de referencia IP PM-DY/09 basado en la técnica GC-MS en modo SIM.

El método propuesto se basa en el empleo de una columna polar en la primera dimensión y una columna apolar en la segunda. Debido a que se emplea un detector no espectrométrico de masas, la identificación de los compuestos se realizó mediante tiempos de retención, mientras que su cuantificación se llevó a cabo mediante calibrado con patrones externos. El método fue validado y se obtuvieron buenos valores de recuperación, cercanos al 100% y bajos límites de detección, en un intervalo entre 3 y 6  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de FAME en queroseno.

Por último, se analizó por ambos métodos una serie de muestras de queroseno recogidas de diferentes puntos de distribución en España con el fin de comparar los dos métodos analíticos.

En el siguiente trabajo, se desarrolló un método que proporciona información detallada de muestras de queroseno, mediante la determinación de n-parafinas, iso-parafinas, olefinas, naftenos y aromáticos. Este tipo de caracterización recibe el nombre de análisis PI(ON)A y tiene una gran importancia en la industria petroquímica, porque permite el seguimiento de diversos procesos de conversión y predecir el comportamiento de los productos en posteriores procesos o en sus aplicaciones finales.

El método se basa en el empleo de la cromatografía GC×GC acoplada a un detector espectrométrico de tiempo de vuelo (TOFMS). Para el procesamiento del volumen tan grande de datos que se generó al analizar muestras tan complejas se trabajó con herramientas específicas de clasificación e identificación. La herramienta de identificación, llamada *Scripting*, identificó los compuestos según la familia a la que pertenecían, mientras que la herramienta de *Classification* los clasificó según el número de carbonos que contenía la molécula. La herramienta *Scripting* está basada en el empleo de *scripts* que son funciones escritas en lenguaje de programación Visual Basic. Dichas funciones son creadas por los usuarios y en ellas se definen parámetros específicos relacionados con los espectros de masa de los compuestos que se quieren identificar. Es decir, esta herramienta permite localizar compuestos en el cromatograma cuyo espectro de masas coincide con los requisitos establecidos en los *scripts*. De esta forma, la identificación de los miles de compuestos presentes en la muestras se hizo de forma inequívoca y mucho más rápida. Finalmente, las distintas familias identificadas fueron semicuantificadas mediante la suma de las áreas de los iones moleculares y los iones de los fragmentos más característicos de las familias.

El método desarrollado se aplicó a varias muestras de queroseno con diferente composición debido a que las muestras eran productos de distintos procesos de refino. Para evaluar la fiabilidad de los resultados de semicuantificación obtenidos, las muestras también fueron analizadas por distintos métodos de referencia y se hizo una comparación de los resultados encontrando una gran concordancia entre los mismos.



El tercer trabajo trata sobre la especiación de compuestos nitrogenados en destilados medios. La determinación de las especies nitrogenadas presentes en muestras petroquímicas tiene gran importancia por sus efectos negativos durante los procesos de refinado del petróleo. Éstos envenenan los catalizadores e inhiben los procesos de hidrodesulfuración. Por este motivo, la técnica GC×GC acoplada a un detector de quimiluminiscencia de nitrógeno se empleó para determinar y cuantificar las especies nitrogenadas presentes en los destilados medios. El método desarrollado se basó en una extracción previa de los compuestos de la matriz hidrocarbonada y su fraccionamiento por familias mediante la extracción en fase sólida. El fraccionamiento de los compuestos nitrogenados fue necesario para evitar coeluciones entre algunas de las familias que pueden dar lugar a una errónea cuantificación de los compuestos. Así, una de las fracciones contenía las anilinas, los indoles y los carbazoles, mientras que la otra fracción contenía piridinas, quinolinas y acridinas. El método desarrollado fue validado obteniendo buenos valores de recuperación, repetibilidad y bajos límites de detección. Además, diversas muestras de destilados medios fueron analizadas mediante el método propuesto y sus resultados se compararon con el método de referencia ASTM-4629 encontrando una buena concordancia entre los resultados de ambos métodos.

En la parte final del trabajo se explica el desarrollo de un método para la determinación de un aditivo desactivador de metales presente en gasóleos mediante GC×GC-NCD. Los desactivadores de metales han sido utilizados durante más de sesenta años para prevenir reacciones catalizadas por metales en productos de petróleo que afectan a su estabilidad. El desactivador comúnmente empleado es N,N'-disaliciliden-1,2-propanodiamina y su concentración es alrededor de 7 ppm en gasóleo. La cuantificación de concentraciones bajas del desactivador en combustibles resulta difícil debido a la complejidad de la matriz y en este trabajo quedó demostrado que con las técnicas cromatográficas unidimensionales el desactivador no pudo ser cuantificado correctamente. Por este motivo se optó por la cromatografía de gases bidimensional que solventó los problemas encontrados con las técnicas unidimensionales. El alto poder de resolución proporcionado por GC×GC evitó problemas de coelución entre la matriz y el desactivador de metales, mientras que la alta sensibilidad de GC×GC junto con la del detector NCD permitieron determinar bajas concentraciones del desactivador.

Además, fue necesario derivatizar el desactivador de metales previamente con un agente sililante, el N,O-Bis (trimetilsilil)trifluoroacetamida, a temperatura ambiente. Finalmente, el método se validó y se analizaron diferentes muestras de gasóleos mediante calibrado con patrón externo.



## Lista de Figuras

<b>Figura 1:</b> Esquema general de una torre de destilación. Se obtienen diferentes fracciones según el punto de ebullición de los compuestos, encontrándose, los más volátiles en la parte de arriba y abajo los más pesados. Dichas fracciones dan lugar a numerosos productos con aplicaciones en todos los aspectos de la vida cotidiana. ....	35
<b>Figura 2:</b> Esquema de un sistema GC×GC <b>(A)</b> y GC-GC <b>(B)</b> . Partes del sistema: 1) Inyector, 2) Columna 1D, 3) Columna 2D, 4) Detector, 5) Posibilidad de hornos separados para las dos columnas, 6) Modulador, 7) Válvula. ....	40
<b>Figura 3:</b> Representación gráfica de la capacidad de pico. Un espacio determinado de tiempo se divide en segmentos los cuales corresponden, cada uno de ellos, a la gaussiana del pico que eluyen en ese tiempo. ....	41
<b>Figura 4:</b> Representación de la capacidad de pico teórica de un sistema multidimensional. <b>A)</b> Muestra un sistema Heart-cut con una transferencia de masa hacia la segunda columna. <b>B)</b> Ilustra un sistema GC×GC. ....	42
<b>Figura 5:</b> Pico cromatográfico de un compuesto sin modular <b>(A)</b> , modulado <b>(B)</b> y comparación de ambos <b>(C)</b> . Al modular un pico se obtienen picos estrechos y debido a la compresión de la masa los picos tienen mayor señal. ....	43
<b>Figura 6:</b> Relación entre la dimensionalidad de la muestra y los criterios de separación en un sistema GC×GC. ....	44
<b>Figura 7:</b> Cromatograma de una muestra de queroseno obtenido mediante GC-FID. ....	45
<b>Figura 8:</b> Cromatograma de color en 2D de una muestra de queroseno obtenido mediante GC×GC-TOFMS. ....	45
<b>Figura 9:</b> Ampliación de un cromatograma de color en la zona de las parafinas. En rojo está delimitado cada uno de los clúster de una muestra craqueada <b>(a)</b> y sin craquear <b>(b)</b> . ....	46
<b>Figura 10:</b> Combinaciones de columnas empleadas en el sistema GC×GC según trabajos publicados sobre dicha técnica. Gráfica tomada de Dimandja et. al [31]. ....	48

<b>Figura 11:</b> Simulación del proceso de separación de tres picos (azul, verde y amarillo) en un sistema cromatográfico sin y con modulador. Si no hay modulador <b>(A)</b> , después de separarse los tres picos en la 1D <b>(1)</b> pueden volver a coeluir en la 2D <b>(2)</b> o invertir su orden de elución <b>(3)</b> . Si hay modulación <b>(B)</b> , después de separarse los compuestos en la 1D <b>(4)</b> el modulador focaliza los picos <b>(5)</b> , los transfiere a la 2D, mientras el resto queda retenido en el modulador <b>(6)</b> y puede que dos compuestos coeluidos se separen en la 2D <b>(7)</b> . ....	49
<b>Figura 12:</b> Simulación de un cromatograma en color con efecto <i>wrap-around</i> en uno de los picos representado por un punto rojo. Los puntos amarillos son los compuestos que han eluido dentro del $P_M$ establecido.....	50
<b>Figura 13:</b> Principales moduladores térmicos para el sistema GC×GC. <b>(A)</b> Modulador térmico en dos pasos y <b>(B)</b> modulador de barrido. ....	52
<b>Figura 14:</b> Principales moduladores criogénicos. <b>(A)</b> Modulador criogénico longitudinal y <b>(B)</b> modulador de dos jets.....	53
<b>Figura 15:</b> Esquema de funcionamiento de un modulador criogénico de cuatro jets.....	54
<b>Figura 16:</b> Principales moduladores de válvulas. <b>(A)</b> Modulador de diafragma, <b>(B)</b> modulador con división de flujo y <b>(C)</b> modulador de microfluídica. ....	56
<b>Figura 17:</b> Señal cromatográfica obtenida con una velocidad de adquisición lenta y otra rápida. Al adquirir de forma lenta se registran menos puntos por pico, lo que puede enmascarar la resolución cromatográfica obtenida.....	57
<b>Figura 18:</b> Simulación del proceso de modulación de un pico cromatográfico. El pico se divide en varias partes según el periodo de modulación y da lugar a pequeños picos modulados más estrechos y más altos que el pico original. ....	61
<b>Figura 19:</b> Transformación de la señal obtenida en un sistema GC×GC para dar lugar a diferentes tipos de cromatogramas. ....	63
<b>Figura 20:</b> Simulación de una deconvolución de varios picos coeluidos según el ion característico de cada pico, calculado mediante algoritmos matemáticos, a partir de los espectros de masas adquiridos. ....	66

<b>Figura 21:</b> Reacción de transesterificación de un triglicérido para dar lugar a tres ésteres metílicos .....	76
<b>Figura 22:</b> Esquema general de la cadena de distribución de productos petrolíferos .....	77
<b>Figura 23:</b> Cromatograma de color 2D de un queroseno comercial dopado con FAME obtenido con GC×GC-TOFMS en fase normal. Ampliación en la zona de elución de las especies de FAME .....	82
<b>Figura 24:</b> Cromatograma de color 2D de queroseno comercial dopado con 10 ppm de FAME obtenido con GC×GC-FID en fase inversa. ....	83
<b>Figura 25:</b> Ampliación en cromatograma de color de un patrón estándar de 50 mg•kg <sup>-1</sup> de FAME en n-dodecano obtenido mediante GC×GC-TOFMS <b>(a)</b> y GC×GC-FID <b>(c)</b> ; muestra de queroseno dopada con 10 mg•kg <sup>-1</sup> de biodiésel obtenido mediante GC×GC-TOFMS <b>(b)</b> y GC×GC-FID <b>(d)</b> . La ausencia de FAME C17 en las figuras <b>(b)</b> y <b>(d)</b> indica que el biodiésel no es de origen animal sino vegetal.....	86
<b>Figura 26:</b> Gráficos de Cajas y Bigotes obtenidos para las seis muestras de queroseno dopadas con concentraciones conocidas de FAME. Los seis gráficos demuestran que la precisión de la Técnica 2 (GC×GC-FID) es mayor. ....	92
<b>Figura 27:</b> Cromatograma 2D de una muestra de gasóleo dopada con FAME obtenida en fase inversa mediante GC×GC. ....	94
<b>Figura 28:</b> Ampliación en cromatogramas 2D de color de (a) un patrón estándar de 5 mg•kg <sup>-1</sup> de FAME en n-dodecano y de (b) una muestra de gasóleo dopada con 5 mg•kg <sup>-1</sup> de biodiésel obtenidos mediante GC×GC-TOFMS. ....	96
<b>Figura 29:</b> Ampliación de cuatro cromatogramas en color 2D en la zona de elución de los naftenos y parafinas, obtenidos al analizar una muestra de queroseno con los cuatro sets de columnas estudiados: <b>a)</b> ZB-50, <b>b)</b> BPX-50, <b>c)</b> IL-59 y <b>d)</b> ZB-1701 .....	106
<b>Figura 30:</b> Cromatogramas 2D de color de una muestra de queroseno. Las zonas de elución de los saturados <b>(a)</b> y los aromáticos <b>(b)</b> han sido procesadas con las herramientas <i>Classification</i> y <i>Scripting</i> . Los compuestos están clasificados según la familia a la que pertenecen y el número de carbonos que contienen. El número representado en cada zona indica el número de carbonos de la cadena alquílica.....	111

- Figura 31:** Distribución de n-Parafinas expresado en % (m/m) de cuatro muestras de queroseno analizadas mediante GC×GC-TOFMS (barras verdes) y mediante GC-FID (barras amarillas). ..... 115
- Figura 32:** Superposición de dos cromatogramas obtenidos mediante el detector IR y el detector UV-Vis de una disolución de gasóleo en n-hexano con fase móvil n-hexano/THF. Con el detector IR se registró la elución de los compuestos saturados (Sat) y el con el detector UV-Vis la elución de los insaturados (Ins). ..... 121
- Figura 33:** Ampliación en el cromatograma 2D obtenido mediante GC×GC-TOFMS de la zona de elución de los compuestos de la fracción saturada de la muestra gasóleo ... 122
- Figura 34:** Ampliación en el cromatograma 2D obtenido mediante GC×GC-TOFMS de la zona de elución de los compuestos de la fracción insaturada de la muestra gasóleo 122
- Figura 35:** Superposición de los cromatogramas de las fracciones saturada e insaturada. Color naranja-rojo: fracción insaturada. Color azul: fracción saturada. ... 123
- Figura 36:** Ampliación de la zona de elución de los compuestos insaturados de cinco cromatogramas superpuestos obtenidos al analizar diferentes concentraciones de gasóleo en n-hexano mediante HPLC-IR con la fase móvil n-hexano/THF..... 124
- Figura 37:** Ampliación de la línea base justo antes de la elución de los compuestos insaturados de cinco cromatogramas superpuestos obtenidos al analizar diferentes concentraciones de gasóleo en n-hexano mediante HPLC-IR con la fase móvil n-hexano/THF. .... 124
- Figura 38:** Cromatograma de una disolución de gasóleo en n-hexano obtenido mediante HPLC-IR con la fase móvil n-hexano/acetona. Se muestra la elución de los compuestos saturados (Sat) e insaturados (Ins). ..... 126
- Figura 39:** Estructura molecular de los principales compuestos nitrogenados presentes en crudos ..... 130
- Figura 40:** Ampliación de cuatro cromatogramas en color 2D de la zona de elución de los compuestos nitrogenados presentes en la disolución patrón, obtenidos con los cuatro sets de columnas estudiados en GC×GC-NCD: **a)** Set A (DB-1×BPX-50), **b)** Set B (DB-1× ZB-1701), **c)** Set C (HP-INNOWax ×Equity-1) y **d)** Set D (DB-1×IL-59)..... 137

<b>Figura 41:</b> Cromatogramas 2D de color de la fracción de diclorometano <b>(a)</b> y la fracción de acetona <b>(b)</b> obtenido de una muestra real de diésel. ....	140
<b>Figura 42:</b> Reacción del MDA con cobre que da lugar a un quelato .....	148
<b>Figura 43:</b> Ampliación de un cromatograma, obtenido mediante GC-MS en modo SIM, de la zona de elución del MDA silanizado presente en una muestra de gasóleo. Los iones seleccionados para el análisis fueron 178, 220 y 235 m/z.....	152
<b>Figura 44:</b> Cromatograma obtenido mediante GC-NCD de una muestra de gasóleo aditivado con MDA .....	153
<b>Figura 45:</b> Cromatograma bruto de una muestra de gasóleo con 7 mg·kg <sup>-1</sup> de MDA. Ampliación de la zona de elución del pico modulado de MDA. ....	154
<b>Figura 46:</b> Ampliación de la zona de elución del MDA derivatizado en un cromatograma de color 2D de una muestra de gasóleo con 7 mg·kg <sup>-1</sup> del aditivo MDA. ....	155
<b>Figura 47:</b> Simulación del proceso de modulación de dos picos coeluidos trazados en color rojo y verde, respectivamente, empleando un P <sub>M</sub> corto <b>(a-b)</b> y otro largo <b>(c-d)</b> representado con líneas azules; <b>(e)</b> y <b>(f)</b> muestran una ampliación de un cromatograma en color de dos picos obtenidos con un P <sub>M</sub> corto y otro largo, respectivamente. ....	156
<b>Figura 48:</b> Variación del área del pico de MDA frente a los microlitros de BSTFA añadidos al Paquete 1 y 2 respectivamente.....	158
<b>Figura 49:</b> Variación de la concentración de MDA frente a la cantidad de Cu añadido a gasóleo A y B.....	160



## Lista de tablas

<b>Tabla 1:</b> Principales artículos sobre GC×GC aplicados a la industria petroquímica .....	70
<b>Tabla 2:</b> Distribución de ésteres metílicos de los ácidos grasos expresados en %, en biodiésel según el aceite de origen. ....	76
<b>Tabla 3:</b> Ésteres metílicos de ácidos grasos utilizados para el desarrollo del método según la norma IP PM-YD/ 09 .....	79
<b>Tabla 4:</b> Condiciones cromatográficas optimizadas para GC×GC-TOFMS y GC×GC-FID .....	84
<b>Tabla 5:</b> Resultados de validación para el sistema GC-MS (SIM) y el GC×GC-FID. LOD y LOQ se calcularon considerando 3 y 10 veces, respectivamente, la SD de la relación S/N, después de realizar 10 inyecciones de un queroseno comercial libre de FAME....	88
<b>Tabla 6:</b> Concentración de las especies de FAME individuales y de FAME total de seis muestras diferentes de queroseno dopadas con FAME obtenidas mediante GC-MS (SIM) y GC×GC-FID. Los datos de concentración vienen dados en $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , mientras que los de desviación estándar relativa (RSD) y los de recuperación vienen dados en %.....	89
<b>Tabla 7:</b> Concentración de FAME total obtenida de diez muestras diferentes de queroseno determinadas por GC-MS (SIM) y GC×GC-FID. ....	90
<b>Tabla 8:</b> Resultados análisis ANOVA. Comparación de los resultados obtenidos con los sistemas a 95 % de nivel de confianza. F = valor estadístico de test de Fischer, P = valor de la probabilidad .....	91
<b>Tabla 9:</b> Condiciones cromatográficas optimizadas para la determinación de FAME en gasóleo.....	94
<b>Tabla 10:</b> Especies de FAME y sus correspondientes iones empleados en el método. ....	95
<b>Tabla 11:</b> Sets de columnas estudiadas en GC×GC-TOFMS. La columna DB-1 (metilpolisiloxano, 30 m × 0,25 mm × 0,25 $\mu\text{m}$ ) se utilizó como primera columna en los cuatro sets. ....	103
<b>Tabla 12:</b> Condiciones cromatográficas optimizadas para el análisis de querosenos .....	107

<b>Tabla 13:</b> Masas de los fragmentos y los iones moleculares empleados para la semicuantificación de las distintas familias de compuestos presentes un queroseno.....	112
<b>Tabla 14:</b> Distribución de compuestos por familias de hidrocarburos y número de carbonos obtenidos al analizar una muestra de queroseno mediante GC×GC-TOFMS. Resultados expresados en % (m/m).....	113
<b>Tabla 15:</b> Comparación de resultados obtenidos mediante GC×GC y los métodos de referencia de ocho muestras de queroseno. Datos expresados en porcentaje m/m. ....	114
<b>Tabla 16:</b> Resultados de validación del método para la determinación de n-parafinas en productos petrolíferos. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue obtenido al analizar una serie de patrones estándar con un contenido en n-parafinas entre 5 y 25 %. LOD y LOQ fueron obtenidos considerando 3 y 10 veces, respectivamente, la desviación estándar de la ordenada en el origen dividido por la pendiente. ....	116
<b>Tabla 17:</b> Condiciones cromatográficas del sistema HPLC-IR y HPLC-UV-Vis con fase móvil n-hexano/THF .....	120
<b>Tabla 18:</b> Condiciones cromatográficas del sistema HPLC-IR con fase móvil n-hexano/acetona.....	125
<b>Tabla 19:</b> Composición de la disolución multipatrón preparada para la optimización del método analítico.....	132
<b>Tabla 20:</b> Condiciones cromatográficas optimizadas para los sistemas GC×GC-NCD y GC×GC-TOFMS .....	134
<b>Tabla 21:</b> Combinación de columnas estudiada en el sistema GC×GC-NCD para el desarrollo del método. ....	138
<b>Tabla 22:</b> Resultados de la validación del método desarrollado. Los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) fueron obtenidos de patrones estándar cubriendo un intervalo de concentración entre 0,5 y 25 mg•kg <sup>-1</sup> . Los datos de RSD, recuperación, LOD y LOQ son valores promedios para cada una de las familias de nitrogenados.....	142

<b>Tabla 23:</b> Datos de cuantificación de compuestos nitrogenados en destilados medios obtenidos mediante el método GC×GC-NCD y el método ASTM-4629. Las concentraciones están dadas en $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . .....	143
<b>Tabla 24:</b> Condiciones cromatográficas optimizadas para el sistema GC×GC-NCD .....	154
<b>Tabla 25:</b> Contenido de MDA ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) determinado en muestras de gasóleo A y B recogidas del mercado español. ....	159

## Lista de abreviaturas y símbolos

1D	Primera dimensión
1DGC	Cromatografía de gases de una dimensión
2D	Segunda dimensión
2DGC	Cromatografía de gases de dos dimensiones
AED	Detector de emisión atómica, en inglés <i>Atomic emission detector</i>
ANOVA	Análisis de varianza
BTEX	Benceno, Tolueno, Etilbenceno y Xileno
BSTFA	Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida
DCM	Diclorometano
ECD	Detector de captura de electrones, en inglés <i>Electron Capture Detector</i>
EI	Impacto electrónico, en inglés <i>Electron Impact</i>
μECD	Micro detector de captura de electrones, en inglés <i>Micro Electron Capture Detector</i>
FAME	Esteres metílicos de ácidos grasos, en inglés <i>Fatty Acid Methyl Esters</i>
FIA	Indicador de adsorción fluorescente, en inglés <i>Fluorescent Indicator Adsorption</i>
FID	Detector de ionización de llama, en inglés <i>Flame ionization detector</i>
FT-ICRMS	Espectrometría de masas de Transformada de Fourier de Resonancia Ciclotrón de Iones, en inglés <i>Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry</i>
GC	Cromatografía de gases
GC×GC	Cromatografía de gases bidimensional, en inglés <i>Comprehensive two dimensional gas chromatography</i>
GC-GC	Cromatografía de gases <i>heart-cut</i>
GRAM	en inglés <i>Generalized rank annihilation method</i>
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia, en inglés <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IR	Índice de refracción
LCMS	Modulador criogénico longitudinal, en inglés <i>Longitudinally Modulated Cryogenic System</i>

LCO	Aceite de ciclo ligero, en inglés <i>Light Cycle Oil</i>
LOD	Límite de detección, en inglés <i>Limit of Detection</i>
LOQ	Límite de cuantificación, en inglés <i>Limit of Quantification</i>
MDA	Aditivo desactivador de metales, en inglés <i>Metal Deactivator Additive</i>
MeOH	Metanol
MS	Espectrometría de masas, en inglés <i>Mass Spectrometry</i>
MDGC	Cromatografía de gases multidimensional, en inglés <i>Multidimensional Gas Chromatography</i>
$n_1$	capacidad de pico de pico de una columna
NCD	Detector de quimioluminiscencia de nitrógeno, en inglés <i>Nitrogen Chemiluminescence Detector</i>
NIST	Instituto Nacional de Estándares y Tecnología, en inglés <i>National Institute of Standards and Technology</i>
NPD	Detector de nitrógeno fósforo, en inglés <i>Nitrogen Phosphorus Detector</i>
PCA	Análisis de componentes principales, en inglés <i>Principal component analysis</i>
PDD	Detector de descarga de pulsos, en inglés <i>Pulsed Discharge Detector</i>
PIONA	n-Parafinas, iso-parafinas, olefinas, naftenos y aromáticos
$P_M$	Periodo de modulación
PM	Peso molecular
PTV	Inyector de vaporización a temperatura programada, en inglés <i>Programmed Temperature Vaporization Injector</i>
qMS	Espectrómetro de masa con analizador cuadrupolo, en inglés <i>Quadrupole Mass Spectrometer</i>
$R^2$	Coeficiente de determinación
RSD	Desviación estándar relativa, en inglés <i>Relative Standard Deviation</i>
SD	Desviación estándar
SCD	Detector de quimioluminiscencia de azufre, en inglés <i>Sulphur Chemiluminescence Detector</i>
sccm	Centímetros cúbicos estándar por minuto, en inglés <i>Standard Cubic Centimeters per Minute</i>
SCX	Columna intercambio catiónico fuerte, en inglés <i>Strong Cation Exchange</i>

SIM	Monitorización de ion seleccionado, en inglés <i>Selective Ion Monitoring</i>
SFC	Cromatografía de fluidos supercríticos, en inglés <i>Supercritical Fluid Chromatography</i>
S/N	Relación Señal/Ruido, en inglés <i>Signal/Noise</i>
SPE	Extracción en fase sólida, en inglés <i>Solid Phase Extraction</i>
TAN	Número ácido total, en inglés <i>Total acid number</i>
TBP	Temperatura de ebullición real, en inglés <i>True boiling point</i>
THF	Tetrahidrofurano
TOFMS	Espectrometría de masas de tiempo de vuelo, en inglés <i>Time of flight mass spectrometry</i>
UV-Vis	Ultravioleta Visible
VGO	Gasoil de vacío, en inglés <i>Vacuum Gas Oil</i>



# 1

## **CAPÍTULO 1. Introducción**

El petróleo se considera uno de las materias primas más importantes en el mundo y es la principal fuente de energía. El petróleo procede de la descomposición de organismos vivos acuáticos, vegetales y animales, que vivían en los mares, las lagunas o las desembocaduras de los ríos, en las cercanías del mar. El petróleo se encuentra únicamente en los medios de origen sedimentario. La materia orgánica se deposita y se va cubriendo por sedimentos; al quedar cada vez a mayor profundidad, se transforma en hidrocarburos a través de grandes presiones y temperaturas, mediante un proceso de degradación producida por bacterias aerobias primero y anaerobias después. Cada yacimiento de petróleo está constituido por una mezcla de miles de hidrocarburos diferentes, formados por la asociación de átomos de carbono e hidrógeno; a esta mezcla se agregan cantidades variables de sustancias que contienen azufre, nitrógeno, oxígeno y metales como níquel, vanadio y hierro. En condiciones normales, el crudo es un líquido bituminoso que puede presentar gran variación en diversos parámetros como color y viscosidad (desde amarillentos y poco viscosos como la gasolina hasta líquidos negros tan viscosos que apenas fluyen), densidad (entre 0,66 y 0,95 g·mL<sup>-1</sup>), capacidad calorífica, etc. Estas diferencias se deben a la diversidad de concentraciones de los hidrocarburos que componen la mezcla.

El petróleo está formado por miles de compuestos que abarcan un intervalo muy amplio de ebullición, van desde moléculas pequeñas muy volátiles a grandes estructuras no volátiles.



Las principales estructuras hidrocarbonadas que se encuentran en los crudos son los hidrocarburos saturados, olefinas, aromáticos y compuestos polares. El grupo de los saturados está compuesto esencialmente por parafinas que son los principales componentes del crudo. Además, este grupo contiene los naftenos, que son compuestos formados por el mismo número de átomos de carbono y de hidrógeno, formando estructuras cíclicas saturadas.

El grupo de los aromáticos comprende desde pequeñas moléculas con un anillo aromático y diferentes sustituciones alquílicas, a grandes moléculas formadas por más de dos anillos dando lugar a los llamados hidrocarburos poliaromáticos. Dentro de esta familia se encuentran los naftalenos, fenantrenos, pirenos, etc., que también son relativamente abundantes en los crudos.

Los compuestos polares son aquellos que presentan un enlace con heteroátomos de azufre, nitrógeno u oxígeno. Los compuestos azufrados comprenden el grupo más importante dentro de los compuestos polares.

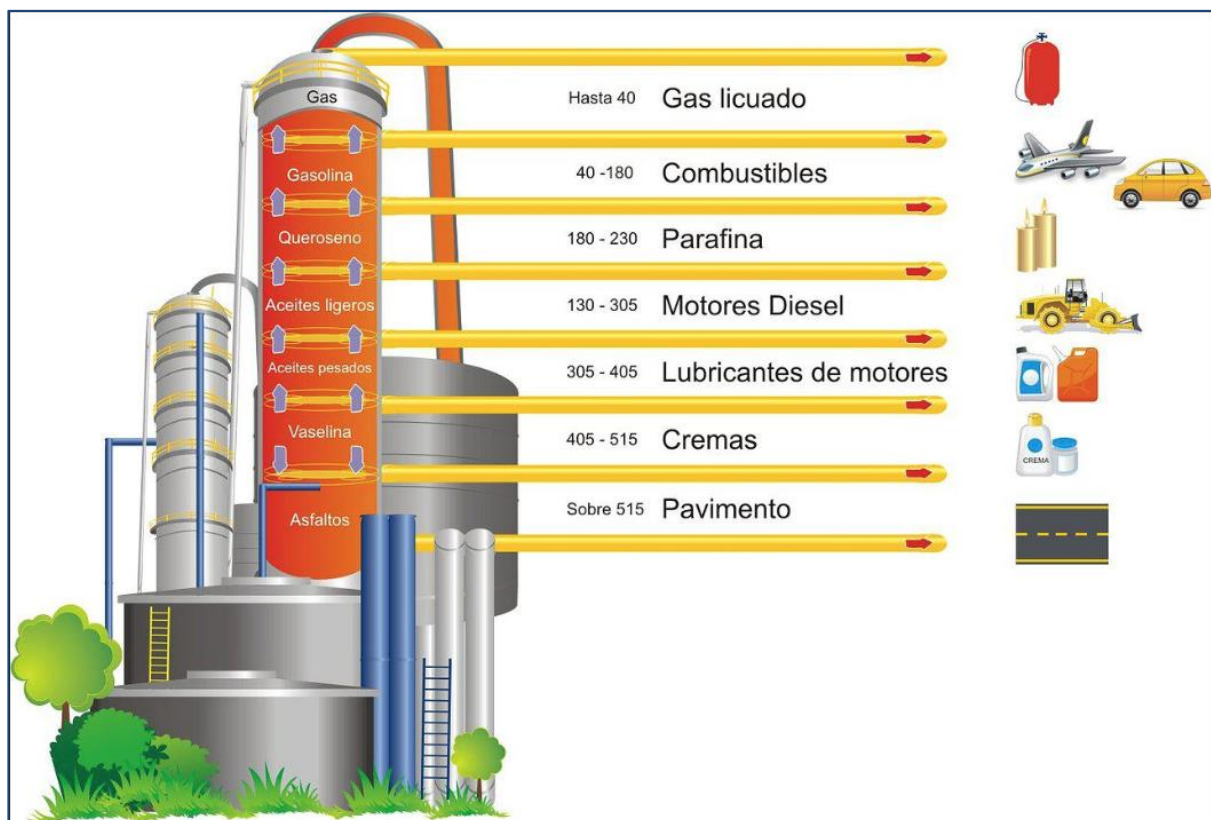
Cabe destacar la presencia en el petróleo de una fracción significativa de materiales (0-20%) de alto peso molecular constituidos por moléculas mixtas de hidrocarburos con algunos compuestos polares. Estos compuestos se denominan asfaltenos. Su estructura es muy compleja y está formada por 10 a 20 anillos con cadenas laterales de hidrocarburos alifáticos y nafténicos. Su interés proviene de los problemas de aseguramiento de flujo que surgen en distintos puntos durante la extracción en yacimientos o en el tratamiento en refinerías al ser sólidos que obstruyen tuberías o desactivan catalizadores.

El petróleo no puede utilizarse tal como es extraído por contener demasiados componentes, cada uno de ellos con propiedades diferentes. Para aprovecharlo es necesario refinarlo es decir, transformarlo. El proceso de refino consiste en:

- Separar, de la mezcla compleja que es el crudo, fracciones de hidrocarburos según determinados intervalos de ebullición “cortes”.
- Purificar algunas de estas fracciones, sobre todo eliminando el azufre, y transformar, aunque sea parcialmente, la estructura química de los hidrocarburos contenidos en éstas.

- Convertir fracciones de intervalos de ebullición alto en otras más ligeras, mediante tratamientos térmicos (eliminación de los hidrocarburos más pesados) o catalíticos (modificación de la estructura química mediante la adición de hidrógeno).
- Mezclar de nuevo las fracciones, de modo que los productos resultantes puedan cumplir una serie de especificaciones.

Los procesos que se llevan a cabo durante el refino del petróleo dan origen a múltiples productos. Los productos forman una gama muy variada (ver Figura 1), y se pueden clasificar según su uso: energético o como materia prima para la industria petroquímica. Sin embargo, prácticamente el 90 % de los productos obtenidos se destina a satisfacer las necesidades energéticas del mundo es decir, se usa como combustibles.



**Figura 1:** Esquema general de una torre de destilación. Se obtienen diferentes fracciones según el punto de ebullición de los compuestos, encontrándose, los más volátiles en la parte de arriba y abajo los más pesados. Dichas fracciones dan lugar a numerosos productos con aplicaciones en todos los aspectos de la vida cotidiana.

En la industria petroquímica existe un esfuerzo continuo para desarrollar técnicas analíticas para la caracterización de los productos de petróleo. Con el fin de entender los aspectos cinéticos de los procesos que se utilizan y para relacionar la composición de los productos con sus propiedades resulta necesaria una caracterización concluyente de las muestras petroquímicas. Este tipo de muestras es muy complejo, ya que puede contener varios miles de componentes y no existe ninguna técnica cromatográfica que sea capaz de separar completamente cada uno de los compuestos de la muestra.

El análisis de muestras complejas resulta un reto cuando el número de compuestos es muy elevado o los analitos están presentes a niveles traza. Técnicas cromatográficas unidimensionales tradicionales, tales como la cromatografía de gases o de líquidos, a menudo no logran separar los compuestos de interés, por lo que no se consigue una correcta identificación y cuantificación de los mismos.

Una poderosa técnica de separación es la técnica de cromatografía de gases bidimensional (GC×GC, en inglés Comprehensive two dimensional gas chromatography). Apareció a principios de la década de los noventa y desde sus comienzos ha demostrado su gran poder de separación el cual permite el estudio de muestras muy complejas y de variada naturaleza. Su principio de separación se basa en el empleo de dos columnas con diferentes fases estacionarias unidas en serie mediante un modulador, dando lugar a un sistema ortogonal, porque los compuestos están sometidos a dos mecanismos de separación independientes. A diferencia de otros sistemas multidimensionales, en la técnica GC×GC toda la muestra está sometida a los dos procesos de separación y no sólo unas pocas fracciones. De esta forma se puede conseguir un análisis completo de una muestra en mucho menos tiempo. Gracias al desarrollo de la cromatografía multidimensional se ha podido avanzar de forma significativa en el análisis de muestras petroquímicas.

Cuando se introdujo la técnica GC×GC, las muestras petroquímicas fueron uno de sus primeros campos de aplicación. El objetivo inicial de esta técnica en la industria petroquímica fue obtener una caracterización de los diferentes productos obtenidos del refinado del petróleo y para ello se emplearon detectores como el de ionización de llama o espectrómetro de masas de tiempo de vuelo. Sin embargo, a medida que iba ganando

popularidad la técnica, su aplicación se ha extendido a análisis más concretos, con compuestos diana, y se han acoplado detectores específicos que han aumentado el campo de aplicación de la técnica. Las principales ventajas de la técnica GC×GC en el campo del refino son:

- Alto poder de resolución y mayor sensibilidad con respecto a la cromatografía de gases convencional.
- Permite en gran medida la separación de muestras complejas en picos individuales. Estos picos pueden clasificarse fácilmente en grupos proporcionando análisis de grupo de compuestos.
- Proporciona cromatogramas muy detallados y fácilmente interpretables de muestras complejas
- Puede proporcionar distribuciones por punto de ebullición de muchas clases diferentes de compuestos (parafinas, olefinas, aromáticos, etc) simultáneamente, aportando mayor información de la muestra.

Una explicación más detallada de los principios de la técnica GC×GC se describe en la siguiente sección.



# 2

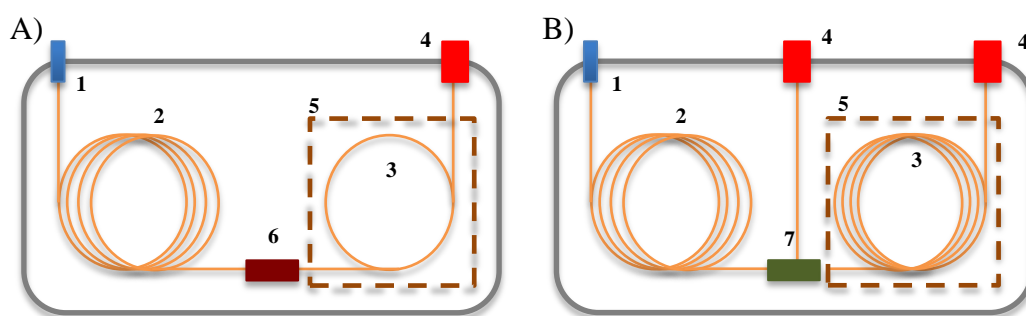
## CAPÍTULO 2. Revisión bibliográfica

La cromatografía resulta ser una técnica muy poderosa de separación con la cual se han desarrollado numerosas e importantes aplicaciones. Sin embargo, casi desde sus comienzos, se vio que para muestras muy complejas, la separación en una sola dimensión no era suficiente, por lo que se necesitaban tratamientos previos de muestra para aislar y/o preconcentrar los analitos lo que alargaba considerablemente el tiempo de análisis. Por este motivo, se han ido desarrollando nuevos sistemas que proporcionaban mayores capacidades de pico ( $n_1$ ) es decir, el número máximo de picos que pueden ser separados, con una resolución convenida en una determinada longitud de columna [1]. El aumento de la capacidad de pico se puede conseguir empleando columnas con mayor número de platos teóricos o combinando diferentes sistemas cromatográficos. En un sistema multidimensional la capacidad de pico se incrementa considerablemente con respecto a una dimensión y dicho aumento depende de la forma en la que se combinen las técnicas.

Se denomina cromatografía multidimensional al acoplamiento de dos técnicas en las que al menos una de ellas es cromatográfica. Los sistemas cromatográficos multidimensionales se empezaron a utilizar casi desde los principios de la cromatografía. Consden, Gordon y Martin [2] en 1944 publicaron por primera vez una separación ortogonal con hojas de celulosa. Algunos años más tarde se combinó la cromatografía con la electroforesis [3] y la electroforesis con electroforesis [4]. Así mismo, la cromatografía en capa fina se combinó con GC-TLC y LC-TLC para dar lugar a separaciones multidimensionales [5].

Dentro de la cromatografía de gases, las técnicas multidimensionales que se emplean son: cromatografía de gases multidimensional (MDGC) y cromatografía de gases bidimensional completa (GC×GC) [6].

La cromatografía de gases multidimensional existe desde los años sesenta [7] y la técnica GC-GC (también llamada Heart-cut gas chromatography) es la más utilizada. En el sistema GC-GC, los compuestos de interés que no han podido separarse en la primera columna son inyectados, en una estrecha fracción (heart-cut), a una segunda columna con una fase estacionaria diferente. Habitualmente este fraccionamiento se realiza mediante un sistema de válvulas: Deans Switching [8] o válvulas de conmutación por presión (ver Figura 2). Al emplear dos columnas de parecida longitud unidas por una interfaz la capacidad de separación es mayor que un sistema unidimensional.



**Figura 2:** Esquema de un sistema GC×GC (A) y GC-GC (B). Partes del sistema: 1) Inyector, 2) Columna 1D, 3) Columna 2D, 4) Detector, 5) Posibilidad de hornos separados para las dos columnas, 6) Modulador, 7) Válvula.

Este sistema es adecuado cuando es necesaria una separación de un reducido número de compuestos y no se requiere información sobre el resto del contenido de la muestra. Sin embargo, cuando se trabaja con muestras muy complejas, como son los derivados de petróleo, esta técnica se ve muy limitada, ya que sigue habiendo coeluciones. Además, el empleo de una segunda separación para cada fracción de interés aumenta considerablemente el tiempo de análisis. Esto unido a la compleja instrumentación requerida y el cada vez mayor interés por las separaciones multicomponentes rápidas han ido desplazando esta técnica por el de GC×GC.

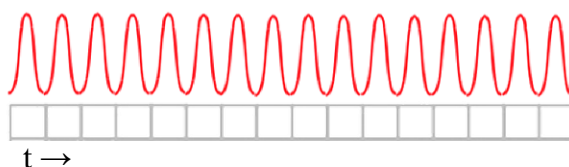
En el año 1991 John Phillips y Zaiyou Liu publicaron el primer trabajo sobre GC×GC [9]. A partir de entonces se han publicado numerosos artículos en los que se detallan los

principios, la instrumentación y las diferentes aplicaciones de la técnica. En ellos se describen las ventajas que ofrece la técnica GC×GC con respecto a otras técnicas analíticas. Dicha técnica ha sido aplicada a campos de tan diversos como la petroquímica [10], medioambiente [11] [12], alimentación [13] [14], farmacia [15] [16] o metabolómica [17].

## 2.1. PRINCIPIOS DE LA TÉCNICA GC×GC

Un sistema de GC×GC está compuesto por dos columnas con fase estacionaria de distinta polaridad y distintas dimensiones conectadas entre sí por un modulador que recoge, enfoca y transfiere periódicamente la muestra de la primera a la segunda columna (Figura 2). A la separación obtenida en la primera dimensión (1D) se añade otra en la segunda (2D) y, de esta forma, todos los componentes de la mezcla están sometidos a dos procesos distintos de separación. Normalmente en la 1D se coloca una columna apolar, la cual permite separar los compuestos según su volatilidad; mientras que en la 2D se coloca una columna polar o semi-polar y que separa según la polaridad de los analitos [18] [19] [20].

Una forma de evaluar el poder de resolución de un sistema cromatográfico es mediante la capacidad de pico de la columna,  $n_c$  [21]. La capacidad de pico (representada en la Figura 3) se define como el número máximo de compuestos que se separan, con una resolución dada, en un determinado espacio de tiempo [22].

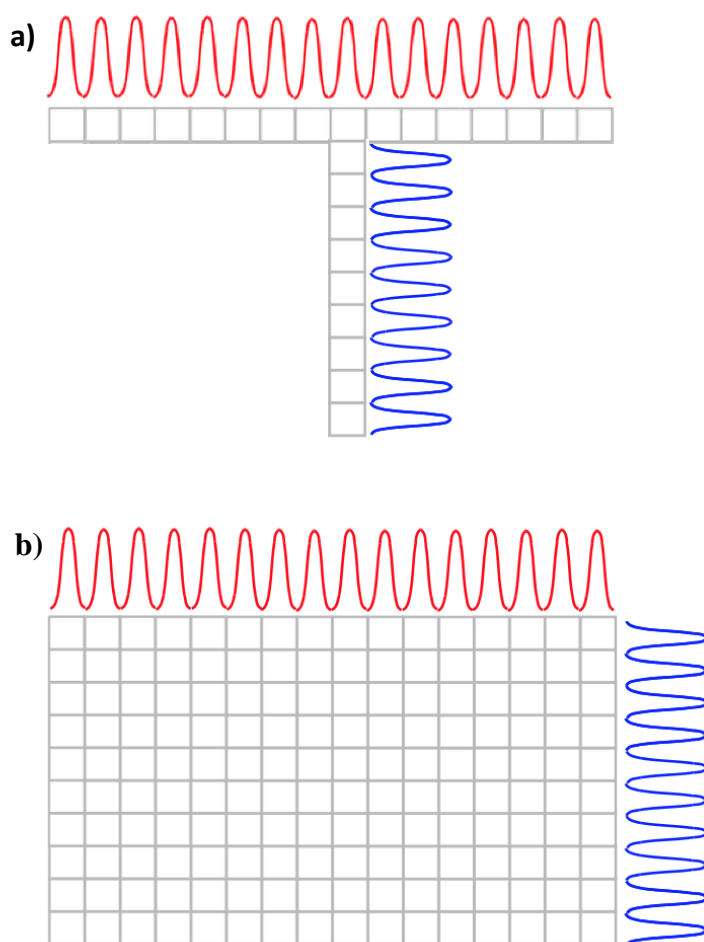


**Figura 3:** Representación gráfica de la capacidad de pico. Un espacio determinado de tiempo se divide en segmentos los cuales corresponden, cada uno de ellos, a la gaussiana del pico que eluyen en ese tiempo.

En el caso de un sistema multidimensional, la capacidad de pico es la suma de las capacidades de las columnas que intervienen en el proceso de separación. De esta forma, en un sistema multidimensional en el que se emplean dos columnas, la capacidad de pico será  $n_1+n_2$  (ver Figura 4a). Si se realizan varias transferencias de masa a la segunda columna (varios Heat-cuts) la capacidad de pico global aumenta, ya que es la resultante de la suma  $n_1+n_2+n_2$ .



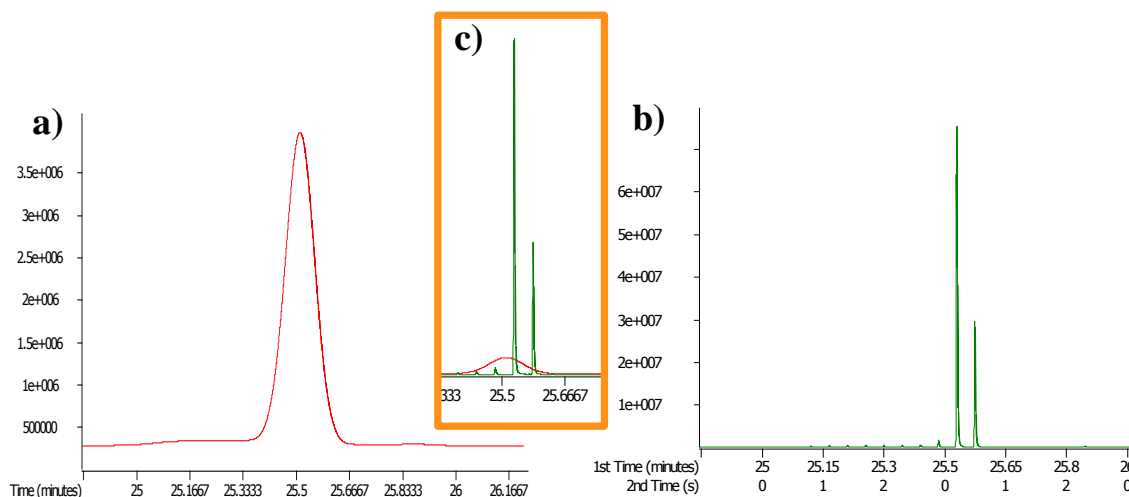
En cambio, en un sistema GC×GC, se considera que se producen separaciones, continuamente, en la segunda dimensión (definido por el periodo de modulación). Esto equivale a que la capacidad de pico resultante sea  $(n_1+n_2+n_2+n_2+....)$  o lo que es lo mismo  $n_1 \times n_2$  (ver Figura 4b) [23]. Por consiguiente, el número de compuestos que pueden separarse en unidad de tiempo es mucho mayor que en un sistema MDGC.



**Figura 4:** Representación de la capacidad de pico teórica de un sistema multidimensional. **A)** Muestra un sistema Heart-cut con una transferencia de masa hacia la segunda columna. **B)** Ilustra un sistema GC×GC.

El modulador resulta ser una parte fundamental del sistema, ya que sin él no se obtendría una separación bidimensional multicomponente y la capacidad de pico del sistema no sería  $n_1 \times n_2$ . El modulador se encarga de fraccionar periódicamente el efluente de la primera columna y transfiere dichas fracciones a la segunda columna. De esta forma, a partir de un pico se obtienen varios picos muy estrechos (milisegundos) y de diferente tamaño (ver Figura 5); además, en los casos en los que haya una compresión de masa en el modulador, se generan picos modulados muy altos lo que aumenta la sensibilidad de la técnica. La

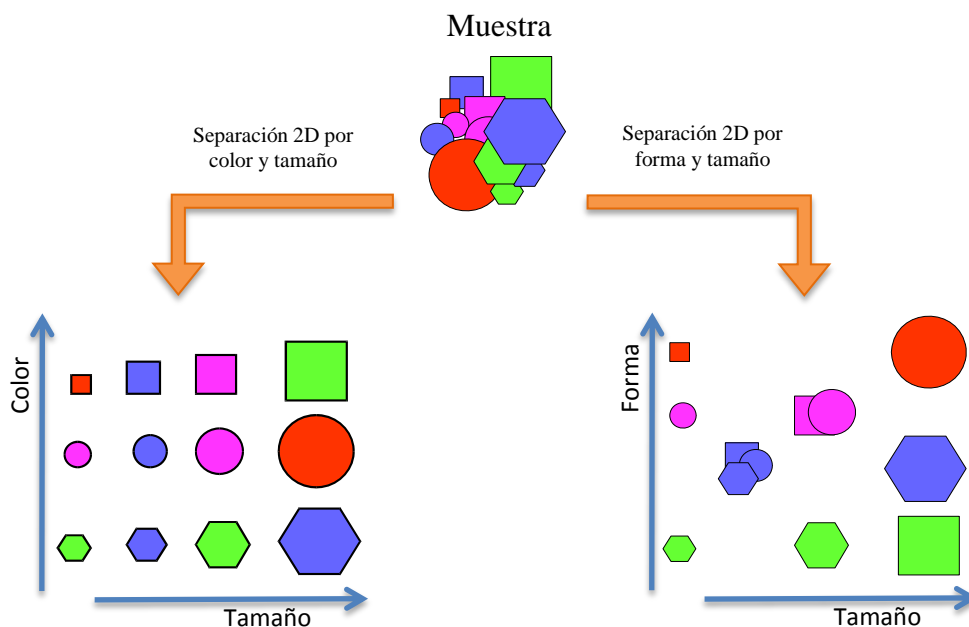
periodicidad del fraccionamiento se establece mediante unos tiempos definidos (en segundos) llamados periodos de modulación ( $P_M$ ). Una correcta elección del  $P_M$  resulta fundamental para obtener una buena separación de los compuestos. Se considera que para preservar la separación conseguida en la primera columna, cada pico tiene que modularse al menos tres veces es decir, si los picos obtenidos en la primera dimensión tienen una anchura de 18 s, el periodo de modulación no deber ser más de 6 s [24].



**Figura 5:** Pico cromatográfico de un compuesto sin modular (A), modulado (B) y comparación de ambos (C). Al modular un pico se obtienen picos estrechos y debido a la compresión de la masa los picos tienen mayor señal.

Otra característica de la técnica GC×GC es la dimensionalidad, concepto introducido por Giddings en 1995 [25]; Giddings define dos tipos de dimensionalidades: la del sistema y la de la muestra. La dimensionalidad del sistema ( $n$ ) se refiere a los diferentes procesos de separación que existen en un sistema, en el caso de GC×GC la dimensionalidad es igual a dos ( $n=2$ ), ya que tiene dos columnas cromatográficas con diferentes fases estacionarias. La dimensionalidad de la muestra ( $s$ ) mide la complejidad de una muestra y se define como el número de variables independientes que se necesitan para separar los componentes de la muestra. Estas variables pueden ser número de átomos de carbono, masa molecular y especialmente en cromatografía de gases el punto de ebullición y volatilidad. Por tanto si una muestra contiene compuestos con propiedades químicas independientes (como por ejemplo un compuesto polar y número de átomos de carbono) la dimensionalidad de esa muestra es igual a dos ( $s=2$ )

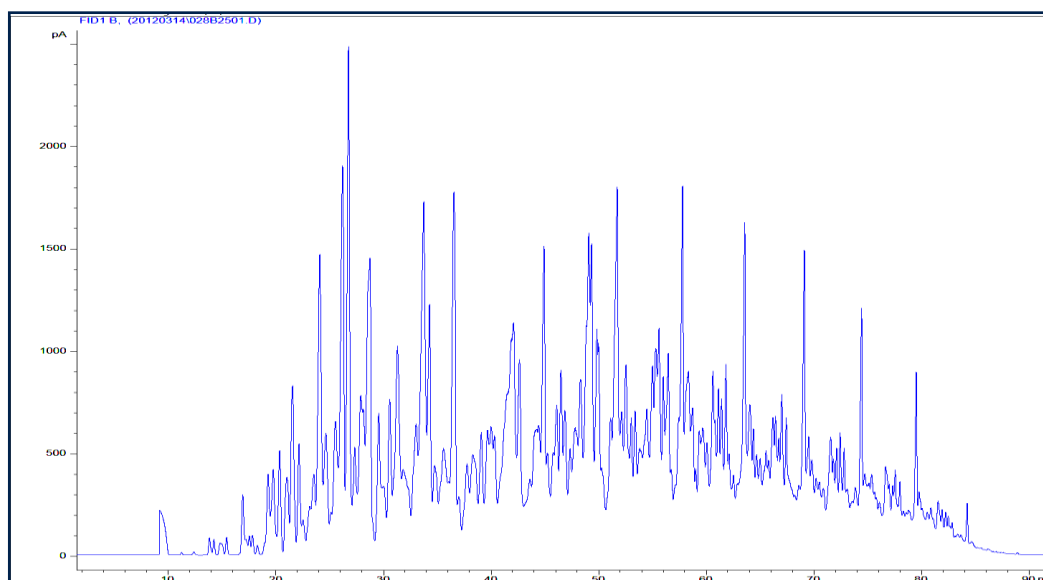
El caso ideal es cuando las dos dimensionalidades son iguales ( $n=s$ ), ya que se separarían todos los compuestos. En la técnica GC  $\times$  GC, con dos separaciones, por punto de ebullición y polaridad, y la muestra con compuestos con dos variables independientes ( $n=2$ ,  $s=2$ ) resolvería los diferentes grupos de compuestos. Si la dimensionalidad de la muestra es menor que la del sistema ( $n>s$ ) un proceso adicional de separación no proporcionaría más información, ya que se conseguiría la separación de los compuestos mediante solo una de las variables (por ejemplo solamente por punto de ebullición). Una separación 1D-GC basada en la volatilidad de los compuestos ( $n=1$ ,  $s=2$ ), da lugar a la coelución de los diferentes grupos químicos, ya que no existe separación por polaridad. Si la dimensionalidad de la muestra sobrepasa la del sistema ( $n<s$ ), los componentes de la muestra no se resolverán de forma sistemática en el sistema y en la separación resultante estarán desordenados. Por ejemplo en un hipotético caso de GC $\times$ GC (Figura 6) en el que se analiza una muestra que contiene compuestos que difieren en forma, color y tamaño es decir,  $n=2$  y  $s=3$ , los compuestos podrán separarse mediante tamaño y color o mediante tamaño y forma. Como se ve en la Figura 6, o no se produce una total separación de los compuestos o los compuestos se encuentran desordenados.



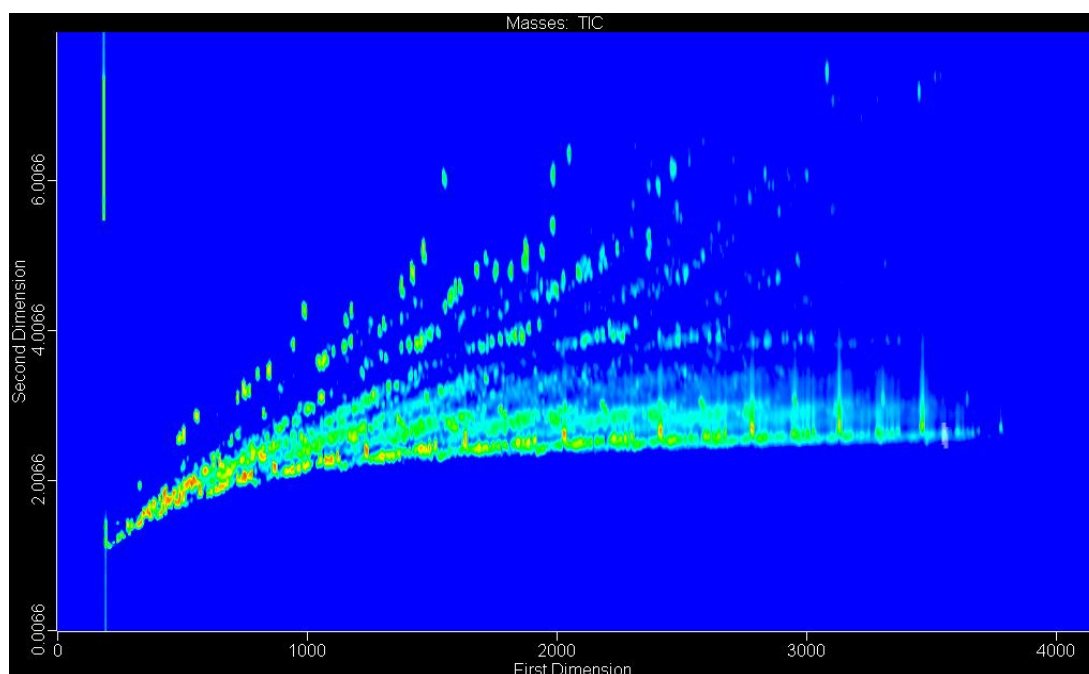
**Figura 6:** Relación entre la dimensionalidad de la muestra y los criterios de separación en un sistema GC $\times$ GC.

Un cromatograma típico de un destilado medio obtenido mediante 1D-GC (Figura 7) presenta una gran envolvente de los compuestos no resueltos debido a la gran complejidad

de la muestra. Dentro de dicha envoltente se encuentran compuestos como las iso-parafinas, naftenos, olefinas y aromáticos que no se consigue separar, mientras que por encima de la envoltente se observa una distribución de picos altos y resueltos que mayoritariamente corresponden n-parafinas [26].



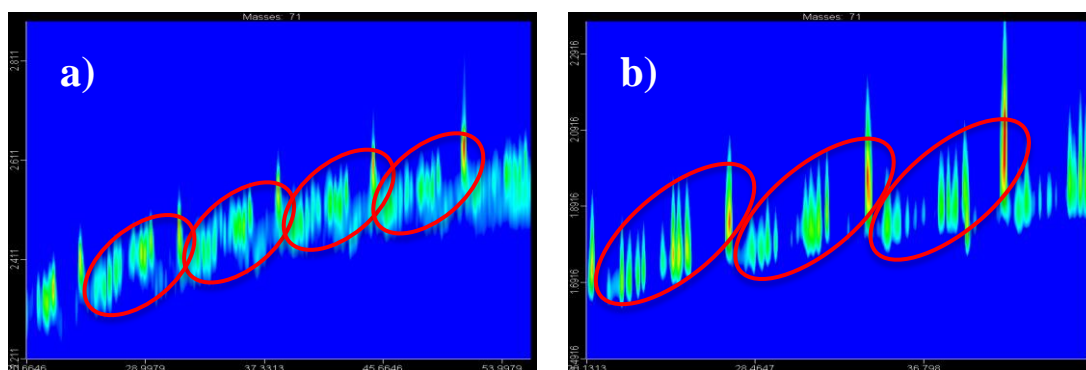
**Figura 7:** Cromatograma de una muestra de queroseno obtenido mediante GC-FID.



**Figura 8:** Cromatograma de color en 2D de una muestra de queroseno obtenido mediante GCxGC-TOFMS.

En una separación bidimensional con un sistema GC×GC (Figura 8), en la parte baja del cromatograma, por ser los menos polares, se encuentran los compuestos alifáticos y en la parte de arriba del cromatograma se sitúan los compuestos más polares, que en el caso de los destilados medios son los poliaromáticos (para mayor detalle ver sección 5.3.3). Gracias a las dos dimensionalidades (sistema y muestra), los compuestos eluyen formando clústeres según su número de átomos de carbono y la clase de compuestos a la que pertenecen.

Esta distribución resulta muy útil a la hora de identificar los compuestos en muestras con gran número de los mismos. En particular, cabe destacar el efecto “roof-tile” [27] que aparece dentro de los clúster y consiste en que el compuesto lineal se sitúan a la derecha del todo del clúster, mientras que los compuestos ramificados pertenecientes a la misma serie homóloga se van situando tanto más a la izquierda del cluster cuanto mayor es su ramificación, ya que disminuye su polaridad (ver Figura 9). Gracias a este efecto es posible distinguir claramente las n-parafinas de las iso-parafinas incluso en muestras hidrocraqueadas, ya que en dichas muestras el contenido en n-parafinas decrece considerablemente y mediante una cromatografía GC-FID es muy difícil su identificación.



**Figura 9:** Ampliación de un cromatograma de color en la zona de las parafinas. En rojo está delimitado cada uno de los clúster de una muestra craqueada **(a)** y sin craquear **(b)**.

Por último, cabe destacar que al emplear columnas convencionales y parecidos flujos de gas portador, los inyectores utilizados en la técnica GC×GC son los mismos que los que se emplean en la cromatografía convencional de gases: *split*, *splitless*, *on-column* o PTV. Esto favorece la versatilidad de la técnica y permite su implementación en análisis muy variados.

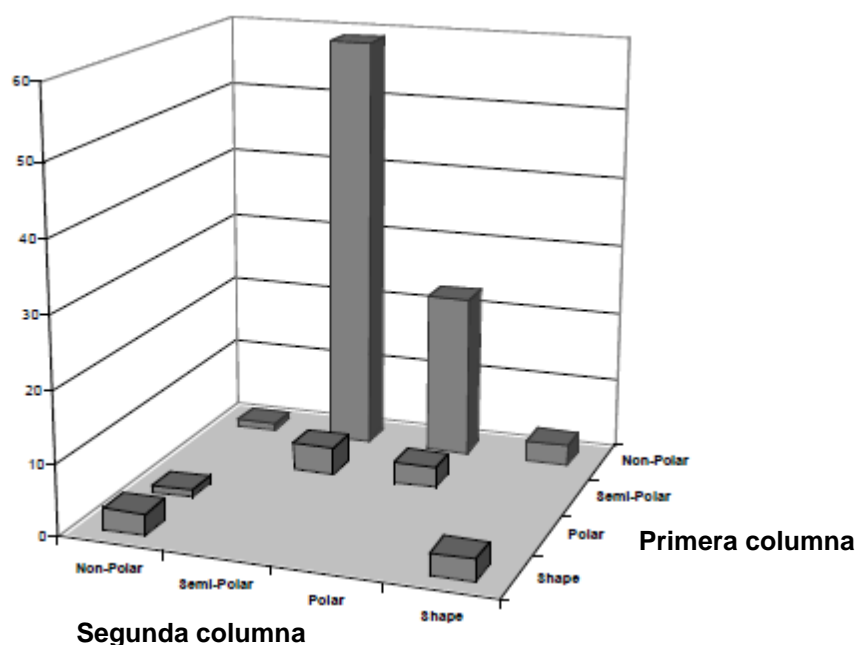
### 2.1.1. Columnas

Como se ha mencionado anteriormente en un sistema GC×GC se trabaja con dos columnas. Dependiendo de cómo se combinen estas dos columnas según sus fases estacionarias, en el contexto de GC×GC se maneja el concepto de fase normal o fase inversa. Cuando se trabaja en fase normal la primera columna es apolar y la segunda polar; mientras que en fase inversa, el orden se invierte siendo la primera columna polar y la segunda apolar.

La separación de los analitos en GC×GC está basada en dos mecanismos: uno, por volatilidad y otro, por interacción con la fase estacionaria por medio de enlaces de hidrógeno, interacciones  $\pi$ - $\pi$ , efectos estéricos, etc [28]. Se considera que en el sistema GC×GC se consiguen mayores capacidades de pico cuando se trabaja en condiciones de ortogonalidad es decir, cuando los mecanismos de separación de las dos columnas son totalmente independientes. Bien es cierto que se puede argumentar que no es posible obtener separaciones ortogonales, ya que, aunque en una columna apolar la separación de los analitos es debida solamente a su volatilidad, en las demás columnas la separación se produce no sólo por la interacción específica con la columna, sino que también influye la volatilidad del analito. Sin embargo, cuando se trabaja en fase normal, hay que tener en cuenta que la separación en la segunda columna es tan rápida, en sólo unos segundos, que se puede considerar que se produce en condiciones isotérmicas, aunque el segundo horno tenga una temperatura programada. Es decir, que aquellos analitos con la misma volatilidad se van a separar sólo por su interacción específica en la segunda columna. Por este motivo se puede considerar que se obtiene la máxima ortogonalidad cuando se trabaja en fase normal [29]. No ocurre lo mismo cuando se trabaja en fase inversa, ya que la separaciones en la primera dimensión requiere más tiempo y al trabajar con columnas polares no sólo actúa la interacción específica, sino que también influye la volatilidad. Por este motivo, y como muestra la Figura 10, la fase normal es la combinación más empleada en la técnica GC×GC. Sin embargo, hay que tener en cuenta, que dependiendo del tipo de muestra y la separación que se persigue, otras combinaciones pueden proporcionar mejores resultados que la fase normal [30].

En principio cualquier fase estacionaria utilizada en 1DGC se pueden emplear en cromatografía GC×GC. En general, fases estacionarias 100 % dimetilpolisiloxano y 5 % fenil 95 % dimetilpolisiloxano se emplean en la primera dimensión, mientras que fases como (35-

50 %) fenil (65-50 %) dimetilpolisiloxano, polietilenglicol, carborano (HT8) y cianopropil-fenil-dimetilpolisiloxano son típicamente usadas en la segunda dimensión. Las dimensiones de la primera columna suelen ser entre 15 y 30 metros de longitud con un diámetro interno de 0,25 - 0,32 mm y un espesor de película entre 0,1 y 1  $\mu\text{m}$ . En la segunda dimensión, la columna es mucho más corta, de 1 a 2 m, el diámetro interno entre 0,1 - 0,25 mm, con un espesor de película de 0,1  $\mu\text{m}$ . Las diferentes dimensiones de las dos columnas dan lugar a diferentes tiempos de análisis. En la primera dimensión el análisis puede durar entre 30 y 120 minutos, dependiendo de la complejidad de la muestra y la rampa de temperatura; mientras que en la segunda columna los tiempos de análisis duran entre 1 y 10 segundos.



**Figura 10:** Combinaciones de columnas empleadas en el sistema GCxGC según trabajos publicados sobre dicha técnica. Gráfica tomada de Dimandja et. al [31]

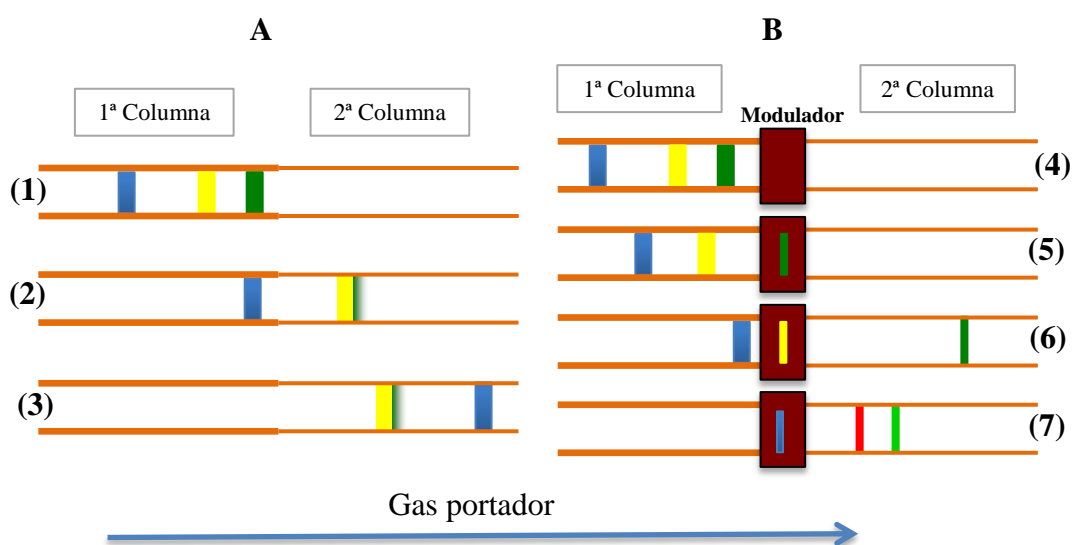
### 2.1.2. Modulación

El modulador es la parte del sistema que transfiere la materia que eluye de la primera columna a la segunda columna. Los requisitos que tiene que reunir un modulador, a ser posible, son: robustez, fácil manejo y amplio margen de trabajo. Además, independientemente de su diseño, un modulador tiene que realizar tres funciones:

- ✓ Atrapar continuamente, en pequeñas fracciones adyacentes, el efluente de la primera columna.

- ✓ Enfocar las fracciones atrapadas para conseguir picos estrechos en la segunda dimensión.
- ✓ Transferir las fracciones de la primera columna a la segunda.

El modulador es una parte fundamental del sistema GC×GC y su necesidad se ilustra en la Figura 11. Al conectar dos columnas en serie con diferentes fases estacionarias sin ninguna interfaz, sólo se consigue una separación en una dimensión es decir, una columna con una mezcla de fases. Con esta disposición puede ocurrir que dos analitos separados al final de la primera columna, sin un modulador que transfiera periódicamente la muestra, vuelvan a juntarse en la segunda columna. Otra posibilidad, es que los picos cambien su orden de elución, lo que finalmente alteraría la primera separación. Sin embargo, añadiendo un modulador debidamente configurado, el efluente de la primera columna se transfiere periódicamente a la segunda columna por lo tanto, la separación de la primera columna se mantiene.



**Figura 11:** Simulación del proceso de separación de tres picos (azul, verde y amarillo) en un sistema cromatográfico sin y con modulador. Si no hay modulador **(A)**, después de separarse los tres picos en la 1D **(1)** pueden volver a coeluir en la 2D **(2)** o invertir su orden de elución **(3)**. Si hay modulación **(B)**, después de separarse los compuestos en la 1D **(4)** el modulador focaliza los picos **(5)**, los transfiere a la 2D, mientras el resto queda retenido en el modulador **(6)** y puede que dos compuestos coeluidos se separen en la 2D **(7)**.

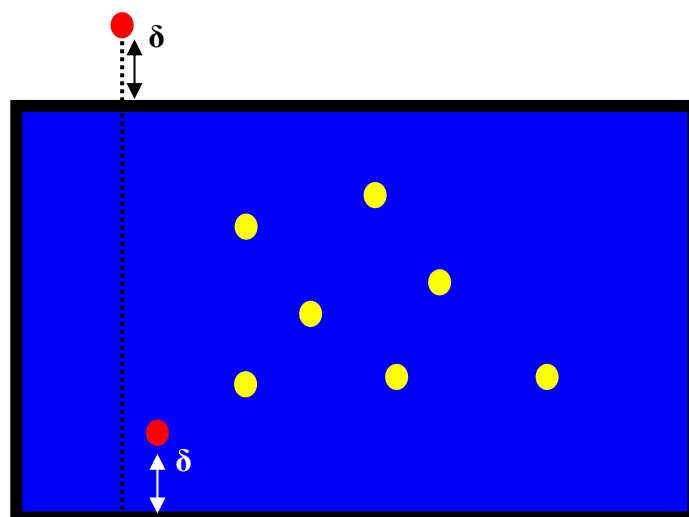
Cuando se emplea la modulación aumenta considerablemente la sensibilidad, ya que al modularse el pico, el analito queda atrapado en una estrecha franja y, por tanto, se



preconcentra, dando lugar a picos estrechos y de una mayor intensidad (ver Figura 5). Esto es muy importante a la hora de analizar elementos traza, ya que puede evitar etapas previas de preconcentración.

Teniendo en cuenta que la anchura de pico ( $W_b$ ) es igual a  $4\sigma$ , siendo  $\sigma$  la desviación estándar de la gaussiana del pico, se aconseja que el periodo de modulación ( $P_m$ ) sea inferior a  $2\sigma$  para obtener una efectiva separación en la segunda columna.

En la práctica, el modulador trabaja a una frecuencia constante de 0,1 - 1 Hz, lo que significa que en fracciones de segundo el eluyente de la primera columna es atrapado, enfocado e inyectado en la segunda columna. Por lo general, la separación en la segunda columna termina antes de que entre la siguiente fracción, si no ocurre así, se produce el llamado efecto *wrap-around*, ver Figura 12. Si a algún componente no le ha dado tiempo a eluir de la segunda columna en el tiempo de la modulación, lo hará con los compuestos de la siguiente modulación, lo que puede dar lugar a una coelución. El efecto de *wrap-around* se puede evitar, por ejemplo, aumentando el tiempo de modulación, modificando el programa de temperatura de los hornos o cambiando la dimensión de la segunda columna; sin embargo, si el *wrap-around* no presenta nuevas coeluciones, no tiene por qué suponer un problema, aunque es preferible evitarlo siempre que se pueda.



**Figura 12:** Simulación de un cromatograma en color con efecto *wrap-around* en uno de los picos representado por un punto rojo. Los puntos amarillos son los compuestos que han eluido dentro del  $P_M$  establecido.

### 2.1.2.1. Tipo de moduladores

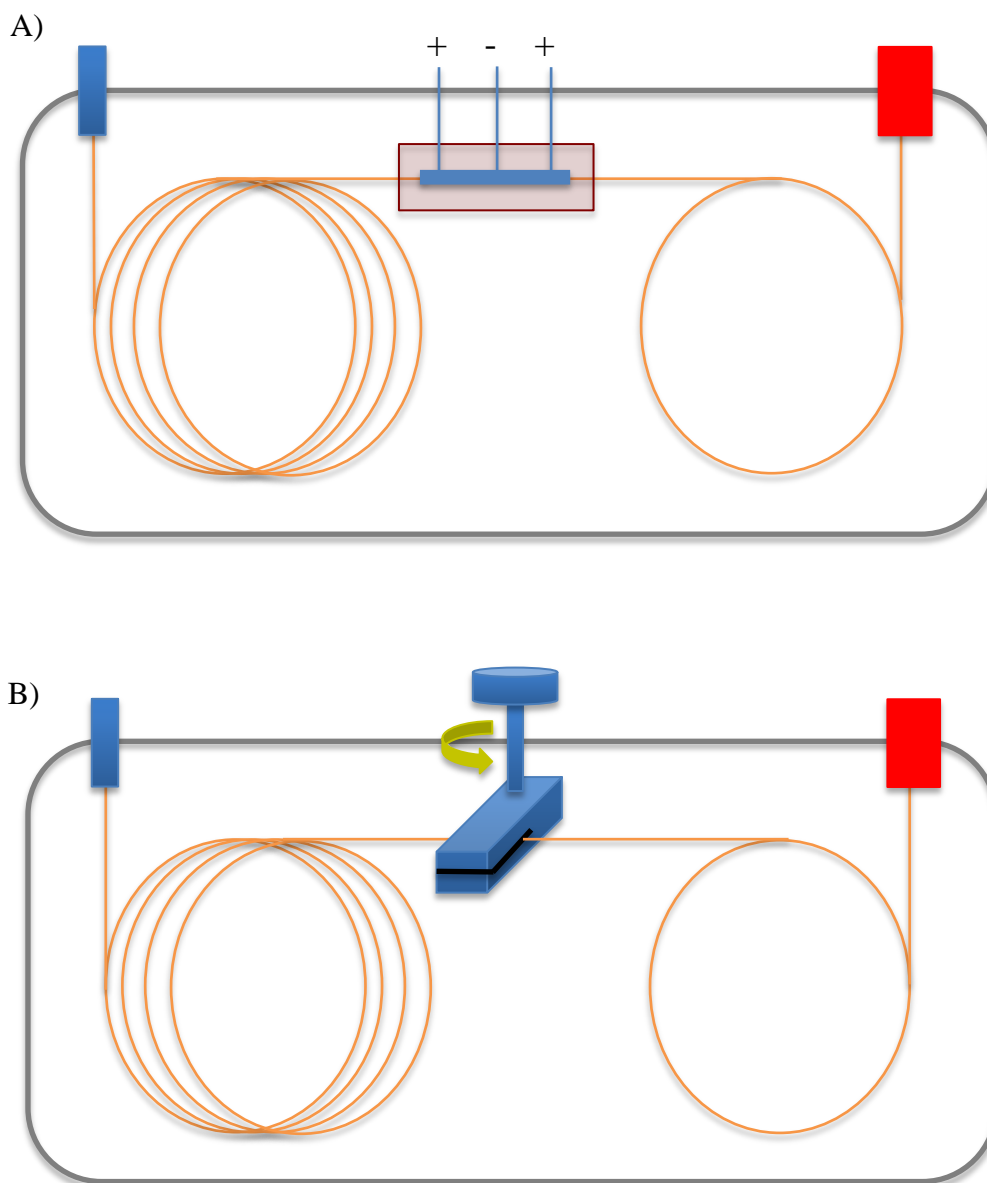
Debido a que el modulador es la parte más importante de un equipo de GC×GC, la evolución de la técnica ha ido ligada al desarrollo de nuevos sistemas de modulación. Los moduladores desarrollados hasta el momento se pueden clasificar principalmente en:

- ✓ Moduladores térmicos
- ✓ Moduladores de válvulas

#### ***Moduladores térmicos***

La función de los moduladores térmicos consiste en atrapar y liberar la materia procedente de la primera columna mediante la aplicación de distintas temperaturas. A su vez, dependiendo de cómo cambie la temperatura, los moduladores pueden ser:

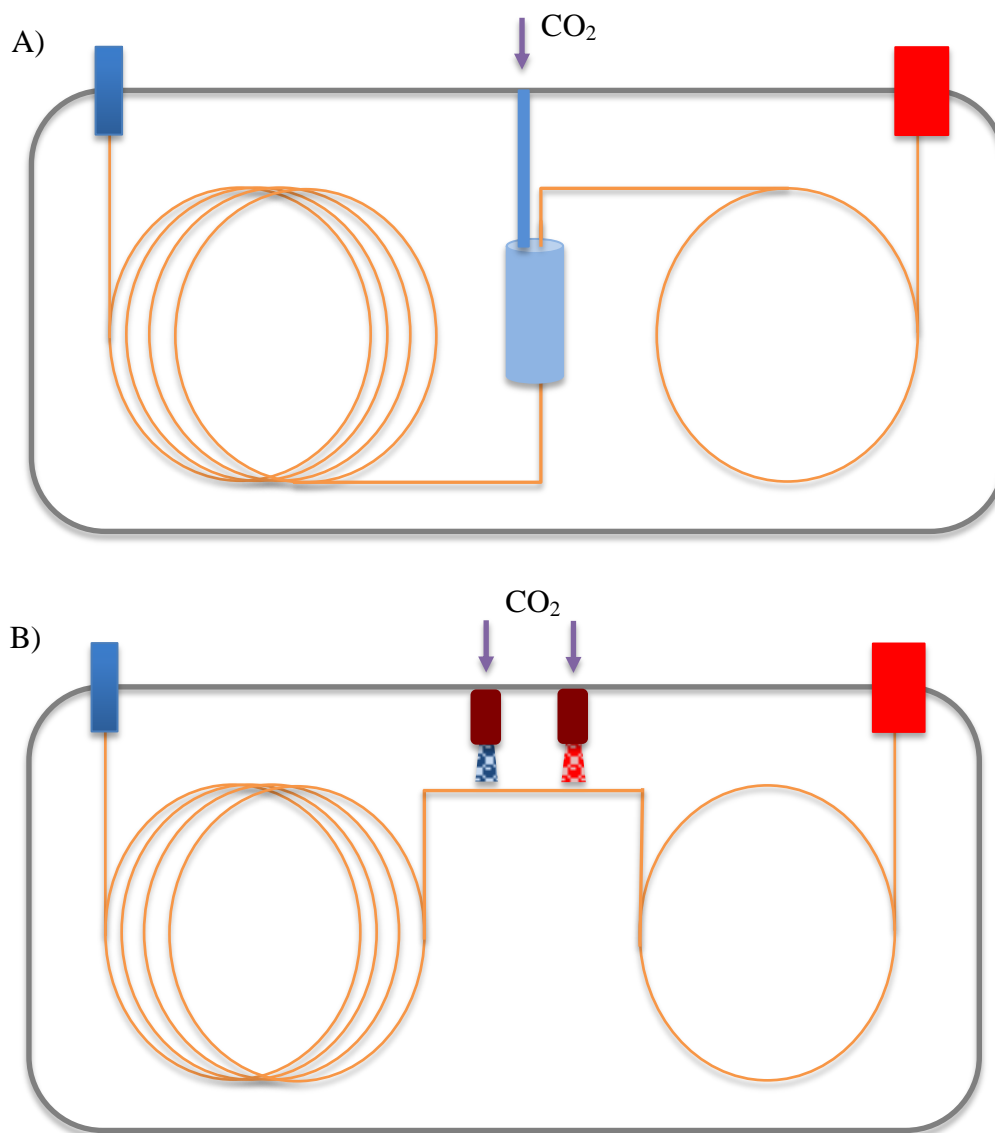
- Térmicos: acumulación en capilar y liberación de la masa al aumentar la temperatura por encima del horno. Este tipo de moduladores fueron los primeros en ser utilizados y demostraron que la cromatografía GC×GC era posible. Los principales moduladores térmicos se pueden ver en la Figura 13. El modulador térmico en dos pasos (en inglés *dual-stage thermal modulator*) transfiere la masa mediante desorción térmica al aplicar una corriente eléctrica de forma alternada al recubrimiento metálico de una columna capilar. Fue el primer modulador y lo desarrollaron Phillips et al., pero se descartó por ser poco robusto y poco reproducible [9]. El modulador de barrido, también desarrollado por Phillips et al., consta de un calefactor rotatorio que gira a lo largo de la segunda columna en la dirección del flujo y libera la masa que fue previamente retenida en la segunda columna mediante calor. Es el primer modulador que fue comercializado, pero su principal desventaja es que no es capaz de retener compuestos volátiles a temperaturas altas del horno.



**Figura 13:** Principales moduladores térmicos para el sistema GCxGC. **(A)** Modulador térmico en dos pasos y **(B)** modulador de barrido.

- Criogénicos: acumulación con criogenia y liberación de la masa al calentar a la temperatura del horno. Para la criogenia se utilizan normalmente los gases CO<sub>2</sub> o N<sub>2</sub>. Hoy en día este tipo de moduladores son los más utilizados, ya que son más eficaces a la hora de realizar la modulación, más reproducibles, presentan menores ensanchamientos de pico y mayor sensibilidad, ya que se preconcentra la muestra. Sin embargo, por su gran gasto de gas criogénico los moduladores de válvulas van

ganando terreno en la cromatografía multidimensional, aunque éstos no presenten las mismas ventajas.



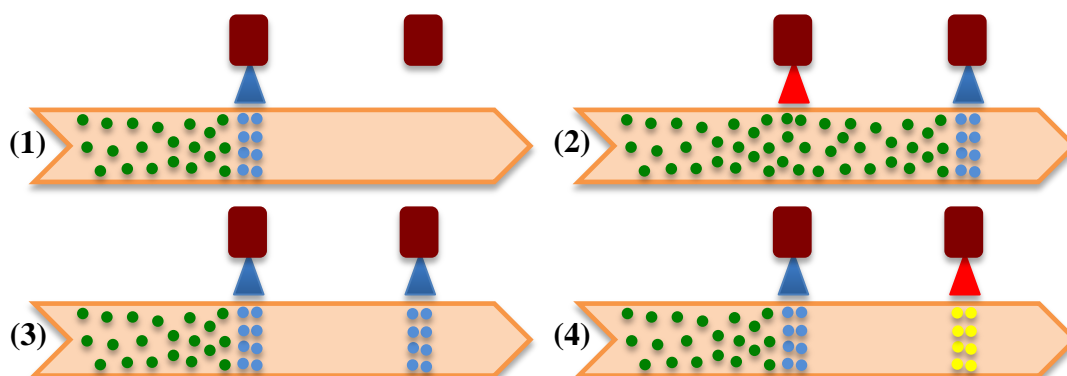
**Figura 14:** Principales moduladores criogénicos. **(A)** Modulador criogénico longitudinal y **(B)** modulador de dos jets.

Los principales moduladores criogénicos se pueden ver en la Figura 14. El modulador criogénico longitudinal (en inglés LMCS) utiliza  $\text{CO}_2$  para atrapar las fracciones de masa y su funcionamiento se basa en una trampa que se mueve longitudinalmente arriba y abajo a lo largo de la columna para transferir la masa. Su ventaja es su amplio intervalo de aplicación (de C8 a C40), aunque no sirve para compuestos muy volátiles.

En los moduladores de chorros, se aplica el gas criogénico directamente sobre la columna para atrapar la materia. De esta forma se evita cualquier parte móvil, por lo que resultan ser más robustos. Existen sistemas con uno [32], dos [33] o cuatro [34] [35] jets que pueden trabajar indistintamente con CO<sub>2</sub> o N<sub>2</sub>, aunque el nitrógeno es capaz de retener compuestos más volátiles que el dióxido de carbono como por ejemplo propano y butano.

En la Figura 15 se muestra un esquema del funcionamiento de un modulador de cuatro chorros. Este tipo de modulador fue empleado en el desarrollo de los métodos analíticos descritos en los capítulos 4, 5, 6 y 7.

El tiempo que permanecen funcionando los chorros caliente y frío se optimiza según el tipo de muestra (compleja o simple) y según el tipo de compuesto (volátil o no volátil).



**Figura 15:** Esquema de funcionamiento de un modulador criogénico de cuatro jets.

**(1)** Un primer chorro frío atrapa los analitos que vienen de la primera columna en una estrecha franja.

**(2)** Se abre el segundo chorro frío y el primer chorro caliente para liberar analitos retenidos en el primer chorro y atraparlos en el segundo chorro frío.

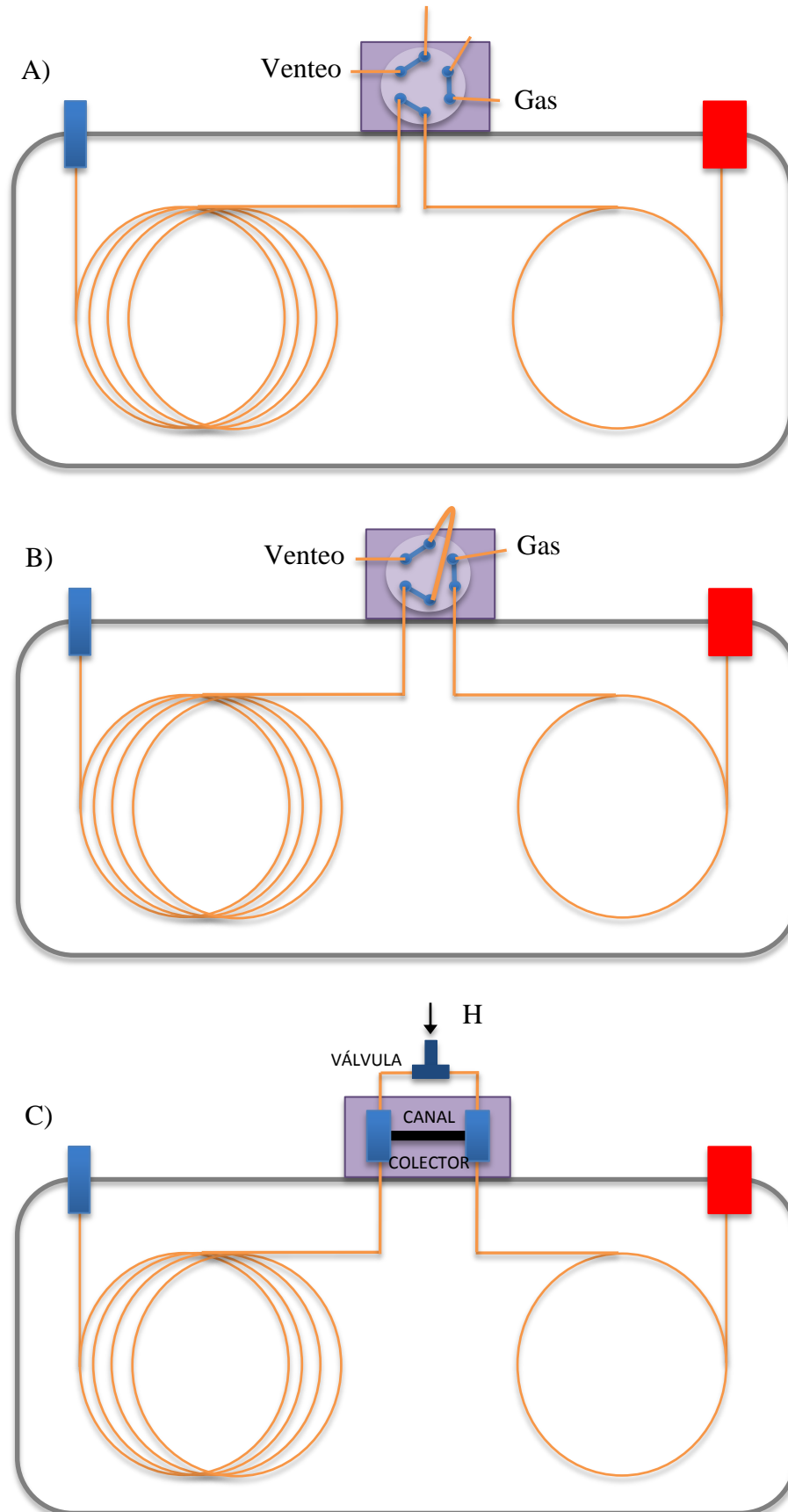
**(3)** El primer chorro frío vuelve a funcionar y atrapa otra franja de analitos y evita que haya un solapamiento de analitos.

**(4)** Se abre el segundo chorro caliente para eluir los compuestos y transferirlos a la segunda columna. En este punto se repite la secuencia de pasos.

### ***Moduladores de válvulas***

En este tipo de moduladores la transferencia de masa se produce mediante el empleo de válvulas de varias vías. La gran ventaja de estos moduladores es que no se emplean gases criogénicos lo que supone un ahorro económico. Sin embargo en la mayoría de los diseños las fracciones transferidas no se preconcentran en bandas estrechas como ocurre en el caso de los moduladores criogénicos y sólo una parte de la fracción es transferida a la segunda columna, ya que el resto se desecha. Los principales moduladores de válvulas son (ver Figura 16):

- Modulador de diafragma: consta de una válvula de seis vías, aunque sólo se utilizan cuatro, ya que se conecta la primera y segunda columna, un venteo y un gas auxiliar que proporciona el flujo a la segunda columna. Sólo un 10-20% del efluente pasa a la segunda columna, por lo que resulta inadecuado para análisis traza.
- Modulador con divisor de flujo: similar al modulador anterior pero en este caso se conecta un loop de muestra, por lo que se utilizan las seis vías de la válvula. Aproximadamente un 80 % del efluente pasa a la segunda columna y se consigue un ligero aumento de sensibilidad por presentar bandas más estrechas debido a que se produce una compresión física del gas.
- Modulador de microfluídica: se utiliza una válvula solenoide de tres vías que al conmutar continuamente colecta e inyecta fracciones de materia en la segunda columna. Un aporte extra de un gas auxiliar proporciona una rápida elución de la fracción colectada del modulador en forma de bandas estrechas. En este modulador no hay pérdida de materia durante la modulación.

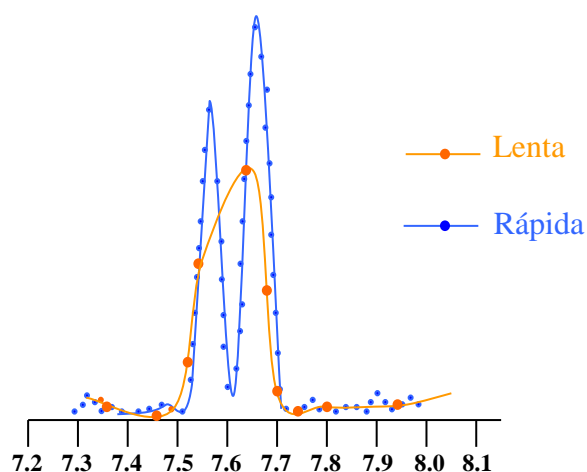


**Figura 16:** Principales moduladores de válvulas. **(A)** Modificador de diafragma, **(B)** modificador con división de flujo y **(C)** modificador de microfluídica.

### 2.1.3. Detectores

El detector es una parte fundamental de cualquier sistema cromatográfico y existen diferentes tipos que se emplean según las necesidades de cada análisis cromatográfico. Sin embargo, no todos los detectores empleados en GC pueden ser acoplados a un sistema GC×GC, ya que es fundamental que sean rápidos y con un volumen interno pequeño.

En un sistema GC×GC, la separación en la segunda dimensión es extremadamente rápida, normalmente de 1 a 10 s. Esto produce picos modulados muy estrechos, entre 100 y 600 ms a línea base [33] [36] [37]. Si se tiene en cuenta que para una adecuada definición de un pico cromatográfico es necesario registrar al menos diez puntos a lo largo de la señal del pico, es muy importante disponer de detectores que tengan una velocidad rápida de adquisición para que sean capaces de manejar una señal que varía rápidamente y no perder así la resolución conseguida en la segunda dimensión (ver Figura 17). Se estima que los detectores acoplados al sistema GC×GC tienen que tener una velocidad de adquisición de al menos 100 Hz. Sin embargo, gracias al avance de la tecnología, se han podido acoplar al sistema GC×GC detectores como  $\mu$ ECD [38], qMS [39], AED [40], SCD [41] y FID [42, 43] [44].



**Figura 17:** Señal cromatográfica obtenida con una velocidad de adquisición lenta y otra rápida. Al adquirir de forma lenta se registran menos puntos por pico, lo que puede enmascarar la resolución cromatográfica obtenida.



#### **2.1.3.1. Detector de ionización de llama (FID)**

El detector de ionización de llama es el más utilizado en cromatografía de gases [45] y fue el primer detector que se acopló a un sistema GC×GC [9]. Su acoplamiento fue posible por su adecuado volumen interno que impide el ensanchamiento del pico y porque era capaz de adquirir datos a más de 200 Hz. Otro aspecto positivo del detector FID que cabe destacar es su amplio intervalo de linealidad,  $10^6$ - $10^7$ .

Como su nombre indica, el detector FID quema los compuestos hidrocarbonados produciéndose iones (pares  $\text{CHO}^+ + \text{e}^-$ ) en la llama que posteriormente darán lugar a una señal eléctrica. La señal que se produce es proporcional al número de átomos de carbono, aunque la presencia de heteroátomos u otros grupos funcionales en el compuesto pueden afectar a la intensidad de la señal. La respuesta del detector FID está relacionada con el número de carbonos no saturados presentes en la molécula, esto permite la cuantificación de grupos de analitos homólogos, aunque no se tenga cada uno de los patrones, lo que facilita el análisis de muestras complejas.

Gracias al poder de resolución de GC×GC, fue posible el acoplamiento de un detector no espectrométrico de masas al GC×GC, como es el FID, en análisis que antes requerían un detector MS porque los picos no estaban resueltos [27] [46].

Las primeras aplicaciones de GC×GC fueron desarrolladas en el campo de la petroquímica en el cual la determinación de compuestos hidrocarbonados como son las parafinas, olefinas, naftenos y aromáticos tiene una gran importancia. En estos análisis el detector FID fue elegido como el método de detección por excelencia.

#### **2.1.3.2. Espectrometría de Masas (sistema analizador: cuadrupolo (qMS), tiempo de vuelo (TOF))**

El uso de un detector espectrométrico de masas resulta conveniente en la identificación de numerosos compuestos para obtener resultados inequívocos. En la actualidad el analizador de masas más empleado en el sistema GC×GC es el tiempo de vuelo, ya que es capaz de adquirir más de 100 espectros por segundo. Esto permite una adecuada recombinación de los picos modulados para una correcta identificación y/o cuantificación del compuesto [47] [29].

Han sido publicados trabajos para muestras petroquímicas [48] [49], análisis medioambiental [11] [50], aceites esenciales [51] y fragancias [52] [53] en los que se ha utilizado con éxito el sistema GC×GC-TOFMS. La combinación del TOFMS con el sistema GC×GC resulta ser hoy en día una de las herramientas más poderosas de separación e identificación [54]; sin embargo, su elevado coste restringe su acceso a muchos laboratorios.

Existe el acoplamiento entre GC×GC-MS con cuadrupolo como analizador (qMS) y que abarata considerablemente la técnica. Sin embargo, la gran desventaja que presenta este sistema es la baja velocidad de adquisición que tiene el cuadrupolo. Varios grupos de investigación han publicado diferentes trabajos aplicados a los mismos campos que el sistema GC×GC-TOFMS [55] [56] [57]. La conclusión a la que llegan los investigadores es que los resultados obtenidos son aceptables, pero para poder trabajar al máximo de velocidad (alrededor de 20 Hz) resulta necesario restringir el intervalo de masa en el que se trabaja (no más de 200 Da). Mejores resultados se obtienen cuando se trabaja en modo SIM, ya que la frecuencia de adquisición aumenta hasta los 30 Hz al limitar mucho más el número de iones y se consigue registrar hasta 6 puntos por pico. No obstante, recientemente ha aparecido en el mercado un nuevo detector qMS de rápido escaneo, con una frecuencia de adquisición de 50Hz y una velocidad de 20.000 amu/scan para un intervalo de masa entre 40 y 330 m/z [58], que mejora las prestaciones de los antiguos qMS.

Como conclusión se puede decir que para aplicaciones con un intervalo de trabajo limitado (entre 100 y 300 Da) el detector qMS resulta ser una buena alternativa al TOFMS. Sin embargo, cuando los analitos de interés abarcan mayores intervalos de masa o cuando los analitos son desconocidos, resulta necesario trabajar con el analizador tiempo de vuelo.

#### **2.1.3.3. Detector de quimioluminiscencia de nitrógeno (NCD) y azufre (SCD)**

Los detectores de quimioluminiscencia de azufre y nitrógeno son selectivos y sensibles a compuestos de azufre y nitrógeno respectivamente. Su funcionamiento se basa en el registro de la radiación que se origina al reaccionar el óxido de azufre o de nitrógeno, formados después de la combustión del compuesto, con el ozono.

La gran ventaja que ofrecen estos detectores es que su respuesta es equimolar [59]. Gracias a esta propiedad del SCD y NCD, se puede determinar la concentración de azufre o nitrógeno orgánico, respectivamente, presente en una muestra sin disponer de todos los patrones. Esto facilita notablemente el análisis de muestras complejas, conteniendo una gran variedad de compuestos, donde resultaría inviable disponer de rectas de calibrado para cada compuesto.

La frecuencia de adquisición de ambos detectores puede llegar hasta los 100 Hz por lo tanto, es posible su acoplamiento al sistema GC×GC. Sin embargo, el SCD presenta un ensanchamiento de pico notable con respecto al detector FID probablemente debido a su mayor volumen de celda (470 µL) o a poseer un sistema electrónico lento [60].

Los principales desarrollos llevados a cabo con sistemas GC×GC-SCD/NCD han sido en la industria petroquímica debido a la gran importancia que tiene la determinación tanto de compuestos de azufre como de nitrógeno en los diferentes destilados medios. Existen varios trabajos en los que se comparan los resultados obtenidos con cromatografía unidimensional y bidimensional, ambas acopladas a un detector SCD [61] [62] o NCD [63] [64]. Todos los trabajos coinciden en el gran avance que supone este acoplamiento en la industria petroquímica por la cantidad de información que proporciona sobre los compuestos azufrados y nitrogenados presentes en las muestras.

#### **2.1.3.4. Detector de captura electrónica (ECD)**

El detector de captura electrónica es uno de los más sensibles y selectivos entre los detectores que existen para GC y es ampliamente empleado en la detección de compuestos con grupos electronegativos como halógenos, peróxidos, quinonas y grupos nitro [46]. Por este motivo, el ECD ha sido el detector elegido a la hora de analizar, a niveles traza, compuestos halogenados tales como pesticidas organoclorados [65], herbicidas [66] o PCBs [67]. Sin embargo, cabe destacar que su intervalo lineal de respuesta normalmente se limita a unos dos órdenes de magnitud.

A finales de 1990 se lanzó al mercado la miniaturización del detector ECD (µECD), para hacerlo más compatible con flujos más pequeños y con fluctuaciones más rápidas de masa en el detector. Se disminuyó la zona de detección, lo que incrementó la sensibilidad y

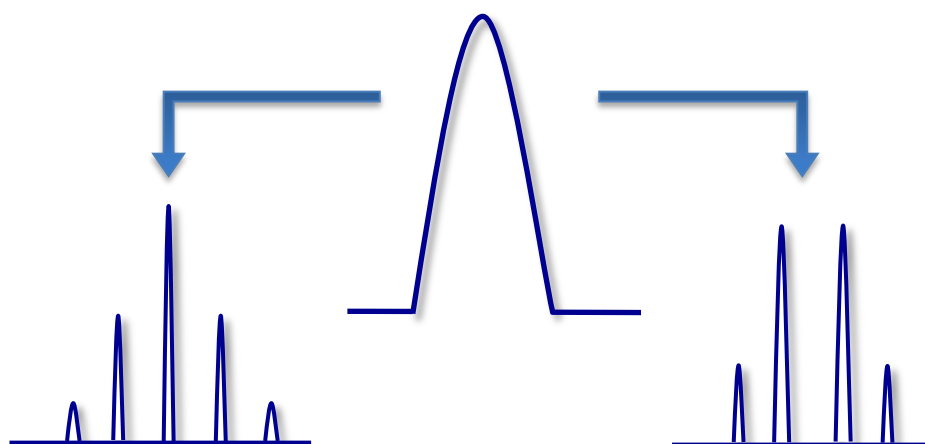
permitió aumentar la velocidad de adquisición [68]. Aun así, para que el detector  $\mu$ ECD reúna las condiciones necesarias para poder acoplarlo al sistema GC $\times$ GC, es necesario optimizar su temperatura y el flujo del gas *make-up* para estrechar los picos modulados. Después de una buena optimización y con un volumen interno reducido se pueden conseguir frecuencias de adquisición de hasta 250 Hz [69].

Sin embargo, aún con el volumen interno más pequeño del mercado (Agilent Technologies), existe un mayor ensanchamiento de pico con respecto al detector FID lo que da lugar a colas en los picos. Además, hay que tener en cuenta que un exceso de flujo de *make-up* puede diluir la masa del analito y, por tanto, disminuir su señal.

Los trabajos publicados con el acoplamiento GC $\times$ GC- $\mu$ ECD están principalmente enfocados al campo medioambiental, por ejemplo en análisis de PCBs en diferentes matrices [70] [71] [72], de fungicidas [73] o de insecticidas [74, 75] [75].

#### 2.1.4. Obtención y visualización de cromatogramas

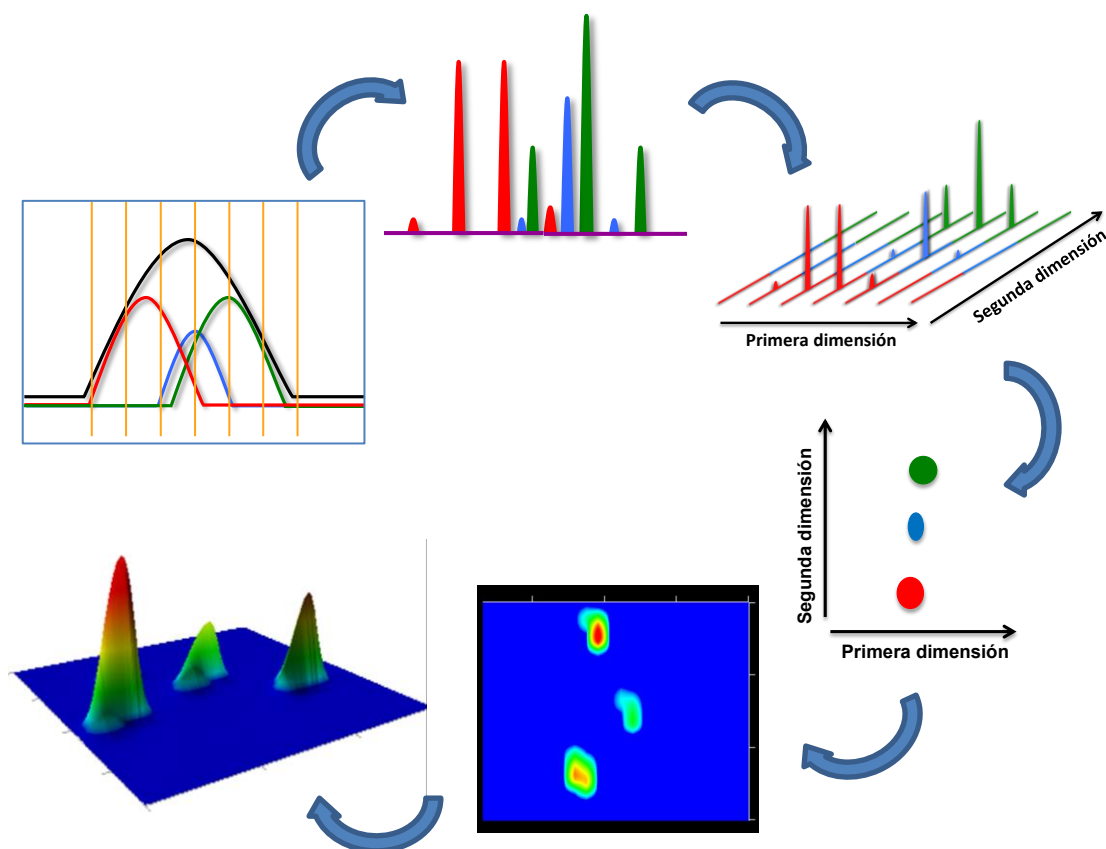
Una de las diferencias más notables entre la cromatografía bidimensional y la unidimensional son los cromatogramas. En la cromatografía 1D cada pico que se registra en el cromatograma corresponde a un compuesto o más de uno en caso de coelución. Sin embargo, en el caso de la cromatografía 2D el pico que eluye de la primera columna es dividido en el modulador en varias partes para dar lugar a los llamados picos modulados (ver Figura 18).



**Figura 18:** Simulación del proceso de modulación de un pico cromatográfico. El pico se divide en varias partes según el periodo de modulación y da lugar a pequeños picos modulados más estrechos y más altos que el pico original.

El número de picos modulados dependerá del número de modulaciones que sufra el pico originario. Por tanto, el número de picos que se genera puede ser 3 ó 4 veces mayor que en una cromatografía 1D. Un volumen tan grande y complejo de información requiere un tratamiento de datos más sofisticados que en la 1D-GC. Hoy en día existen programas específicos para GC×GC que se encargan de recopilar toda la información generada, recombinar los picos modulados en el pico de origen y trasladarlos a un cromatograma de dos o tres dimensiones para facilitar su visualización (ver Figura 19):

- Un cromatograma 2D tiene dos ejes: el eje X representa el tiempo de retención en la primera columna, mientras que el eje Y es el tiempo de retención en la segunda columna. Los picos pueden visualizarse de varias formas:
  - Contorno: señales con parecida intensidad están conectadas por una línea y delimitan la señal del pico.
  - Color: el pico se representa mediante una señal coloreada. Los distintos colores indican la intensidad del pico.
  - Burbuja: el pico se simboliza en forma de una burbuja de color. El tamaño de la burbuja indica la concentración del compuesto.
- En un cromatogramas 3D entra en juego un tercer eje, Z, que indica la intensidad del pico. En este caso el pico tiene forma cónica y la escala de colores representa la altura del pico.



**Figura 19:** Transformación de la señal obtenida en un sistema GCxGC para dar lugar a diferentes tipos de cromatogramas.

### 2.1.5. Identificación

La identificación de los compuestos, al igual que en el sistema 1DGC, se puede realizar mediante tiempos de retención y/o espectros de masa en el caso de un detector espectrométrico. Sin embargo, la ventaja que ofrece la separación bidimensional es que en ella cada compuesto tiene dos tiempos de retención en vez de uno, lo que permite identificaciones basadas en tiempos de retención más fiables. Si se trabaja además con un detector espectrométrico de masas, que proporciona el espectro de masas del compuesto, la identificación es aún más segura.

El primer tiempo de retención ( $t_{R1}$ ) se obtiene de la separación del analito en la primera columna, mientras que el segundo tiempo de retención ( $t_{R2}$ ) proviene de la segunda columna. Para obtener el dato de los tiempos de retención se procedería como en el caso de 1DGC es decir, se inyectaría previamente el patrón del compuesto. Sin embargo, no

siempre es posible tener todos los patrones de interés para poder identificar todos los compuestos. En este caso la cromatografía bidimensional presenta otra ventaja con respecto a la 1DGC y es que sus cromatogramas presentan un orden estructurado de elución. Es decir, los picos pertenecientes a series homólogas de compuestos normalmente eluyen todos en la misma región del espacio cromatográfico. Esto permite algunas veces deducir qué tipo de compuesto es sin otra información que la zona en la que aparece el pico.

Este orden característico de elución y la alta repetibilidad de los tiempos de retención permiten definir las zonas en los que se agrupan los compuestos homólogos, creando los llamados mapas de contorno. Dichos mapas, una vez creados, se pueden aplicar a posteriores análisis, permitiendo una identificación más rápida de los compuestos presentes en la muestra, lo que facilita enormemente el trabajo, sobre todo cuando se analizan muestras muy complejas con una gran variedad de compuestos. Un ejemplo claro de esta forma de elución se puede ver en muestras petroquímicas (ver Sección 4.2), en las cuales se pueden observar zonas bien definidas de elución de alguna de las principales familias que forman la matriz, por ejemplo: parafinas, alquilbencenos y naftalenos [27].

Además, este ordenamiento de los compuestos en el cromatograma resulta muy útil en análisis forense es decir, cuando es necesaria la comparación de varias muestras para determinar su similitud u origen [76]. Esta comparación es más fácil de realizar al trabajar con los mapas de contorno, ya que al agrupar los compuestos característicos permite determinar las similitudes o diferencias entre las muestras de manera más inmediata.

#### **2.1.6. Cuantificación**

La cuantificación en los sistemas GC×GC es bastante similar a la que se utiliza en la 1D-GC, excepto que en vez de integrar un pico que corresponde a un analito, hay que integrar múltiples picos que corresponden al mismo analito. Para calcular la respuesta total del analito de interés hay que integrar todos sus picos modulados y sumar a continuación las integraciones. La integración se puede realizar según el área, volumen o altura. No obstante, la altura de pico es poco utilizada, ya que la forma del pico depende de la fase de la modulación [77].

Hoy en día la integración de los picos se hace automáticamente gracias a los programas específicos que se han desarrollado para los sistemas GC×GC. Así mismo, estos programas permiten realizar modificaciones en la integración en el caso de que fuera necesario. La cuantificación se puede hacer de un solo compuesto o de un grupo de compuestos, algo frecuente en la industria petroquímica.

La cuantificación en dos dimensiones reúne algunas ventajas respecto a la cromatografía unidimensional. Por ejemplo, por su poder de separación, los compuestos se distribuyen por todo el espacio del cromatograma. Esto permite que haya menos interferencias por solapamiento con otros picos y disminuye la interacción que pueda tener el pico con la matriz [9], dando lugar a líneas base con menos ruido. Otra ventaja importante es su mayor sensibilidad. Debido a la alta velocidad en la segunda columna y a la focalización de la masa en el modulador, en caso de moduladores criogénicos, los picos provenientes de la segunda columna son más estrechos y, por tanto son más altos [28] [78] [79]. Esto disminuye el LOD del análisis y permite la detección de analitos a niveles traza.

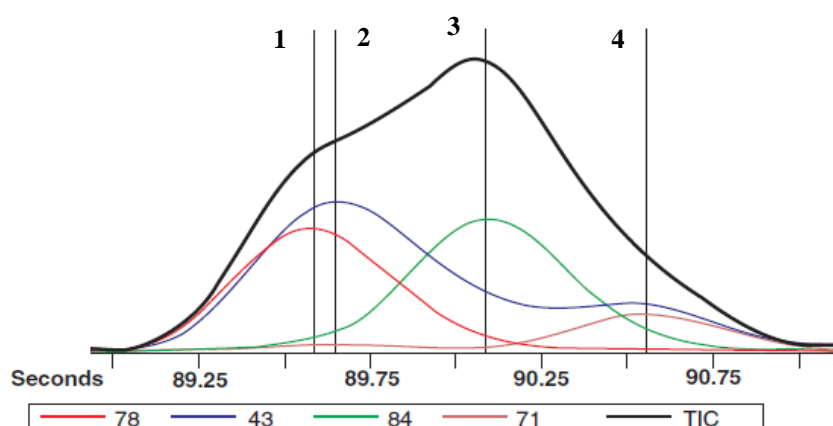
### **2.1.7. Herramientas quimiométricas**

El gran poder de separación de la técnica GC×GC y la modulación de los picos genera una cantidad muy elevada de datos, sobre todo si son muestras muy complejas. Para manejar tal volumen de datos, se recurre a la quimiometría. La quimiometría se empezó a utilizar en los años setenta [80] y se puede definir como la aplicación de métodos matemáticos y estadísticos así como de los principios de la ciencia de medición para extraer de forma eficiente la máxima información útil de datos químicos [81]. Esta definición resulta muy amplia y puede aplicarse a muchas técnicas analíticas. Por lo que respecta a la técnica GC×GC, desde que se creó, se han producido grandes avances para ligar la técnica cromatográfica con la quimiometría con el fin de sacar el máximo partido a la cromatografía bidimensional. La quimiometría es una herramienta imprescindible que permite reducir el tratamiento de los datos, el tiempo de análisis y maximizar la información obtenida en GC×GC [79]. Se emplea para la visualización de los cromatogramas, la optimización de métodos, el procesamiento de señales, determinación de la ortogonalidad, análisis diana, calibración y clasificación. El beneficio de la unión entre el sistema GC×GC y la quimiometría



ya se ha demostrado en áreas tan diferentes como son la farmacéutica [82], medioambiental [83], alimentaria [84], petroquímica [85] y biología [86].

Cabe destacar la deconvolución como una herramienta quimiométrica que sirve para la identificación de compuestos. Aunque la 2DGC da lugar a la separación de muchos más analitos que la 1DGC, no todos los compuestos llegan a separarse y puede ocurrir que siga habiendo coeluciones en GC×GC, sobre todo en muestras complejas. Algunas veces es posible mejorar la separación de los compuestos optimizando las condiciones cromatográficas. Sin embargo, dicha optimización puede alargar los tiempos de análisis, lo que no es nada práctico en análisis de rutina. En este caso se puede recurrir a la deconvolución que permite obtener una resolución matemática de picos coeluidos para un análisis cuali y/o cuantitativo [87]. Esta aplicación está presente en algunos programas de cromatografía con espectrometría de masas, tanto para 1DGC como 2DGC. El software, al adquirir los espectros de masas, calcula mediante algoritmos matemáticos la proporción de los iones para cada analito y así identifica los diferentes compuestos que forman el pico (ver Figura 20). La primera técnica de deconvolución aplicada a GC×GC fue GRAM (en inglés Generalized Rank Annihilation) [88] [79] y una más reciente fue la PARAFAC (Parallel Factor Analysis) [89] [90]. Esta herramienta puede ser muy útil a la hora de establecer la pureza de un pico y evitar errores en la cuantificación del compuesto. Sin embargo, no está libre de errores, ya que en muestras muy complejas puede presentar falsos positivos o falsos negativos [91] y dificultar la labor del investigador.



**Figura 20:** Simulación de una deconvolución de varios picos coeluidos según el ion característico de cada pico, calculado mediante algoritmos matemáticos, a partir de los espectros de masas adquiridos.

Cuando se estudia un gran número de muestras, es frecuente utilizar algoritmos de clasificación para determinar diferencias y semejanzas entre muestras distintas. En el caso de GC×GC existen trabajos en los que se reporta el empleo de métodos tan conocidos como son el análisis de varianza (ANOVA) [92] o el análisis de componentes principales (PCA) [93]. Una herramienta que se está empezando a utilizar para clasificar e identificar los compuestos son los *scripts* [94] [95]. Los *scripts* son funciones, escritas en lenguaje de programación Visual Basic, en las que se definen los iones característicos de un compuesto o familia de compuestos según su espectro de masas. Como es obvio, esta herramienta sólo se puede aplicar en sistemas con detector espectrométrico de masas, ya que se aplica a los espectros de masas de cada compuesto. Al ejecutar los *scripts*, los espectros de masas de los picos cromatográficos que cumplan las funciones definidas, quedarán clasificados dentro de un grupo específico de compuestos. Dichos compuestos quedan asignados de forma correcta, incluso, cuando hay coeluciones entre distintas familias. Esta herramienta resulta muy útil cuando las muestras están formadas por numerosos compuestos, ya que de forma automática clasifica rápidamente los analitos y acorta el tiempo de análisis.

## **2.2. APLICACIONES DE LA TÉCNICA GC×GC EN REFINO**

Desde que se introdujo la cromatografía bidimensional se han publicado numerosos trabajos en los que se han demostrado las ventajas de esta técnica para la química analítica. Normalmente la técnica ha ido destinada al análisis de muestras muy complejas formadas por miles de compuestos que necesitaban ser separados y en los que la 1DGC resultaba ser insuficiente. El petróleo fue uno de los primeros campos de aplicación de la técnica GC×GC. Se esperaba que la alta capacidad de pico de esta técnica aumentara la baja resolución obtenida con la cromatografía convencional cuando se analizaban muestras con hidrocarburos de más de nueve átomos de carbonos. Hasta ahora, la GC×GC ha sido utilizada para caracterizar detalladamente muestras obtenidas del refino de petróleo, principalmente queroseno [27] [96] [97] y gasóleos [98]. Debido a que las muestras de petróleo contienen numerosos compuestos, la identificación individual de cada uno de ellos puede resultar una tarea muy laboriosa y que requiere mucho tiempo. Por consiguiente, todos los esfuerzos se han centrado en conseguir una separación de las distintas familias de compuestos, es el denominado análisis PIONA. Las siglas corresponden a Parafinas,

Isoparafinas, Olefinas, Naftenos y Aromáticos. Uno de los principales objetivos del análisis PIONA es deducir propiedades de las muestras petroquímicas como por ejemplo: el índice de octano que mide la resistencia a la detonación de un combustible; la TBP que distingue los diferentes tipos de petróleo y define los rendimientos que se pueden obtener de los productos por separación directa; o la proporción de Carbono/Hidrógeno de las muestras.

Sin embargo, al hacer una revisión bibliográfica de las aplicaciones desarrolladas para la técnica GC×GC en petroquímica, se pueden encontrar otras aplicaciones más específicas. Uno de ellas es el análisis forense de un crudo cuando se producen vertidos de petróleo al medio ambiente [99]. Este análisis consiste en establecer la procedencia de un crudo es decir, en determinar al causante del vertido, para depurar responsabilidades y tomar las correspondientes acciones legales. La identificación de los crudos se realiza mediante el análisis de su composición química. Uno de los parámetros que se estudian cuando se identifica un crudo son los biomarcadores de petróleo [100]. Los biomarcadores son compuestos orgánicos fósiles que están presentes en los crudos y tienen una relación inequívoca con precursores moleculares específicos de organismos vivos. Proporcionan información acerca del origen y el ambiente deposicional de la materia orgánica fósil, así como de la maduración térmica causada por el flujo de calor geotérmico durante su soterramiento. Por todo lo anterior, el estudio de los biomarcadores proporciona información muy valiosa para la geoquímica. Los biomarcadores se encuentran presentes en las muestras de petróleo en concentraciones menores al 1%, repartidos entre varias clases. Su baja concentración y la gran complejidad de la matriz en la que se encuentran hace que la técnica GC×GC sea una de las más idóneas para su análisis [101].

Otro análisis fundamental de los productos de petróleo es la especiación de compuestos azufrados. Las especificaciones más restrictivas en el contenido de azufre en gasolina y diésel hacen necesario procesos de desulfurización cada vez más severos de los productos de petróleo. La especiación de azufre consiste en la identificación de los compuestos de azufre presentes en las muestras. Comúnmente estas familias son sulfuros, tiofenos, benzotiofenos y dibenzotiofenos y su contenido se utiliza para mejorar los modelos cinéticos de los procesos de desulfurización. Normalmente, este análisis se ha llevado a cabo mediante los sistemas GC-SCD, GC-AED o GC-MS. Sin embargo, estas técnicas presentaban limitaciones cuando se analizaban muestras con alto contenido en azufre.

Existen varias publicaciones en las que se ha aplicado la técnica GC×GC-SCD para la especiación de azufre en muestras petrolíferas y en ellas se demuestra las ventajas que ofrece la cromatografía bidimensional frente a la unidimensional.

También se ha aplicado el sistema GC×GC-FID para la determinación de compuestos oxigenados y BTEX en gasolinas [20]. Los compuestos oxigenados, tales como éteres y alcoholes de pequeño tamaño molecular, se añaden a las gasolinas para reducir las emisiones y mejorar la calidad del aire en zonas contaminadas. Sin embargo, los BTEX (benceno, tolueno, etilbenceno y xileno) tienen un efecto negativo sobre la salud humana.

El petróleo es una materia muy compleja que da lugar a muchos productos, ya que se somete a numerosos procesos. Muchos de estos productos son susceptibles a ser analizados mediante la técnica GC×GC por lo tanto, se amplía considerablemente su campo de aplicación. En la Tabla 1 se recogen los principales artículos publicados sobre la aplicación de GC×GC en la industria petroquímica.

Además, si se tiene en cuenta que el petróleo es la materia prima de muchas industrias se puede vincular la petroquímica con industrias más específicas que fabrican productos tales como fármacos, disolventes, fertilizantes, pesticidas, plásticos, etc., y que también han sido analizados por GC×GC. Con ésto se demuestra la gran versatilidad de la técnica y su amplio campo de aplicación.

**Tabla 1:** Principales artículos sobre GC×GC aplicados a la industria petroquímica

<i><b>Campo de aplicación</b></i>	<i><b>Detección</b></i>	<i><b>Año</b></i>	<i><b>Ref</b></i>
<b>Hidrocarburos</b>			
Comparación de 1D-GC y GC×GC para el análisis de muestras petroquímicas	FID	2004	[102]
Optimización de análisis de mezclas complejas de compuestos volátiles	TOFMS	2003	[103]
Caracterización de destilados medios con sistema ortogonal y no ortogonal	FID	2005	[98]
Estructuras cíclicas de hidrocarburos saturados en muestras petroquímicas	FID	2005	[104]
Análisis PIONA de naftas pesadas	FID	2005	[105]
Caracterización de muestras petroquímicas y derivados	FID	2006	[48]
Seguimiento de la degradación ambiental de un derrame de crudo	FID	2006	[106]
Relación entre alifáticos/aromáticos de hidrocarburos	Mini-PDD	2006	[107]
Fluidos de perforación basados en alquenos en crudos de petróleo	FID	2007	[108]
Carbón líquido producido durante procesos de licuación del carbón	TOFMS	2007	[109]
Caracterización de biomarcadores en crudos de Brasil	TOFMS	2010	[110]
Cuantificación de PAHs en crudos pesados mediante quimiometría	TOFMS	2011	[111]
Resolución de mezclas de compuestos coeluidos en lubricantes con HPLC-GC×GC	FID	2009	[112]
Separación de 18 $\alpha$ (H)-, 18 $\beta$ (H)-oleanano y lupano en crudos	TOFMS, FID	2011	[113]
Clasificación de crudos de gran similitud empleando sets de datos de GC×GC y técnicas multivariantes de análisis	FID	2005	[114]
Análisis completo de hidrocarburos en destilados medios mediante LC-GC×GC	FID, TOFMS	2007	[115]
Empleo de GC×GC-TOFMS para investigar dienos y productos de polimerización Diels-Alder en combustibles de procesos Fischer-Tropsch	TOFMS	2008	[116]
Aplicación de GC×GC para evaluar la contaminación de suelos por crudos	FID, qMS	2006	[39]
Composición química de lubricantes mediante HR-GC y GC×GC	FID, qMS	2007	[10]
GC×GC para análisis de naftas empleando columnas quirales	FID	2008	[117]
GC×GC para análisis de combustibles de aviación sintéticos y derivados del petróleo	FID, TOFMS	2011	[30]
SFC acoplada a dos sistemas GC×GC para análisis de destilados medios	FID	2010	[118]
Caracterización de VGO	FID	2008	[119]
Análisis de fracciones pesadas de petróleo mediante HT-GC×GC	FID	2010	[120]

<b>Compuestos azufrados</b>			
Correlación entre los datos de GC×GC-AED y TOFMS	AED, TOFMS	2003	[40]
Influencia de la electrónica en el detector SCD: aplicación a muestras petroquímicas	SCD	2004	[60]
Compuestos azufrados en crudos	SCD	2004	[121]
Clasificación de aplicaciones cromatográficas, según GC×GC y análisis multivariable de datos	SCD	2005	[122]
Comparación de GC×GC-SCD con métodos estándar para la especiación de compuestos azufrados en destilados medios	SCD	2006	[123]
Pirolisis acoplada a GC×GC para el estudio de la roca madre del crudo	FID, SCD	2007	[124]
Especiación de compuestos azufrados en gasóleos	SCD	2003	[125]
<b>Compuestos nitrogenados</b>			
Especiación de compuestos nitrogenados en diésel	NCD	2004	[126]
Compuestos nitrogenados básicos y neutros en destilados medios	NCD, TOFMS	2007	[64]
Estudio cuali y cuantitativo de compuesto nitrogenados en gasóleos pesados empleando GC×GC-NPD.	NPD	2007	[127]
<b>Compuestos oxigenados</b>			
Caracterización de ácidos nafténicos mediante GC×GC-TOFMS	TOFMS	2005	[128]
GC×GC para el análisis de oxigenados en destilados medios. Determinación de la naturaleza de biodiésel	FID, TOFMS	2008	[129]
Análisis de biodiésel y mezcla con diésel petroquímico mediante GC×GC	FID	2007	[130]
Identificación de compuestos de aceites pirolizados y productos mejorados	FID	2007	[131]
Separación de compuestos oxigenados en una licuación directa del carbono	FID, TOFMS	2011	[132]
Análisis de combustibles con alto contenido en etanol	FID	2008	[133]
Análisis de compuestos oxigenados en productos Fischer-Tropsch	FID	2009	[134]



## 3

## CAPÍTULO 3. Instrumentación Analítica

### Gases:

- ✓ Gas portador: Helio 99.9999% de pureza
- ✓ Gas *make-up*: Nitrógeno 99.9999% de pureza
- ✓ Gases detector FID:
  - Hidrógeno 99.9999% de pureza
  - Aire sintético 99.9999% de pureza
- ✓ Gases detector NCD:
  - Hidrógeno 99.9999% de pureza
  - Oxígeno 99.9999% de pureza

### Sistemas cromatográficos:

- **GC**
  - ✓ Cromatógrafo de gases HP 6890 (Agilent Technologies)
  - ✓ Inyector *split/splitless* modelo 7683 (Agilent Technologies)
  - ✓ Programa *Enhanced Chemstation* para la adquisición y tratamiento de datos (Agilent Technologies)
  - ✓ Detectores:
    - Espectrómetro de masas con analizador cuadrupolo HP 5973 MS (Agilent Technologies)
    - Detector de ionización de llama (Agilent Technologies)



- **GC×GC**

- ✓ Cromatógrafo de gases 7890 (Agilent Technologies)
- ✓ Inyector *split/splitless* modelo 7683 (Agilent Technologies)
- ✓ Modulador criogénico de N<sub>2</sub> de cuatro jets (LECO).
- ✓ Programa Leco-ChromaTOF software (v 4.32) para la adquisición y el tratamiento de datos (LECO).
- ✓ Detectores:
  - Espectrómetro de masas con analizador de tiempo de vuelo Pegasus IV TOFMS (LECO)
  - Detector de ionización de llama (Agilent Technologies)
  - Detector de quimioluminiscencia de nitrógeno (NCD) 255 Dual Plasma (Agilent Technologies)

- **HPLC**

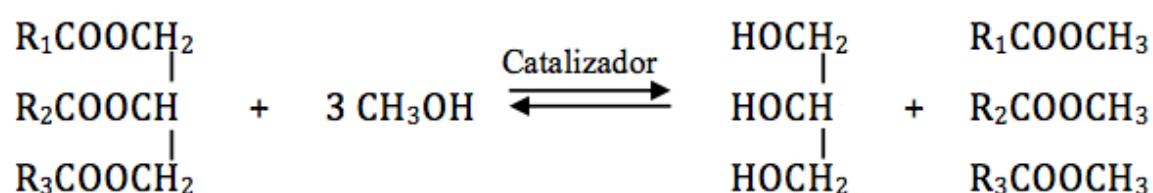
- ✓ Cromatógrafo de líquidos de alta resolución serie 1100 (Agilent Technologies).
- ✓ Detector:
  - Índice de refracción (Agilent Technologies)
  - Ultravioleta-Visible (Agilent Technologies)

# 4

## **CAPÍTULO 4. Determinación de trazas de FAME en queroseno de aviación**

### **4.1. INTRODUCCIÓN**

Como resultado de un creciente interés por disminuir las emisiones contaminantes del transporte terrestre y aéreo y, en definitiva, por conseguir un transporte más sostenible, se han desarrollado nuevos tipos de combustibles, llamados biocarburantes. Los biocarburantes son combustibles líquidos o gaseosos para automoción producidos a partir de biomasa, entendiéndose como tal la materia orgánica biodegradable procedente de cultivos energéticos y residuos agrícolas, forestales, industriales y urbanos. Uno de estos biocarburantes es el biodiésel y resulta ser una alternativa ampliamente aceptada como combustible para motores diésel por sus características técnicas y medioambientales [135]. Cualquier materia que contenga triglicéridos puede utilizarse para la producción de biodiésel (girasol, colza, soja, aceites de fritura usados, sebo de vaca,...). La reacción química como proceso industrial utilizado en la producción de biodiésel es la transesterificación, que consiste en tres reacciones reversibles y consecutivas (Figura 21). El triglicérido es convertido consecutivamente en diglicérido, monoglicérido y glicerina por reacción con el metanol dando lugar a los esteres metílicos de ácidos grasos (FAME). Todo este proceso se lleva a cabo en un reactor donde se producen las reacciones y las posteriores fases de separación, purificación y estabilización.



**Figura 21:** Reacción de transesterificación de un triglicérido para dar lugar a tres ésteres metílicos

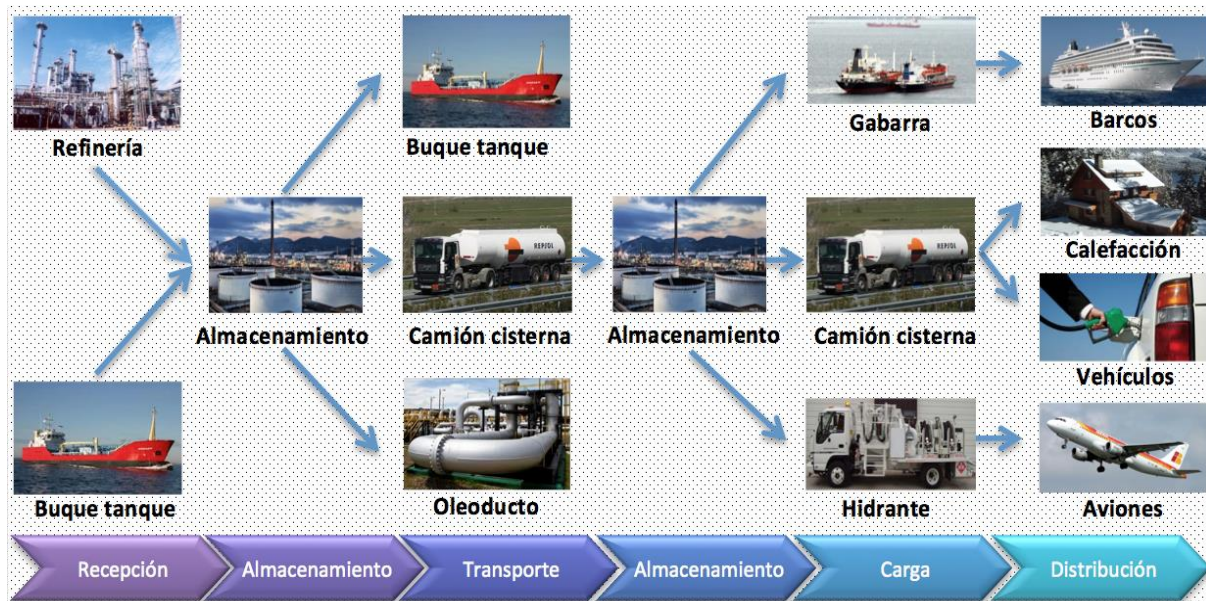
Una vez sintetizado el biodiésel se obtiene una distribución de los diferentes ésteres metílicos de ácidos grasos que componen el biodiésel y que han sido originados en la reacción de transesterificación. Esta distribución de los ésteres metílicos es característica del tipo de aceite empleado como reactivo (ver Tabla 2) y, por tanto un análisis del biodiésel puede indicar la procedencia del mismo.

**Tabla 2:** Distribución de ésteres metílicos de los ácidos grasos expresados en %, en biodiésel según el aceite de origen.

	Oliva	Colza	Girasol	Soja	Palma	Maíz	Algodón
<b>C8:0</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>C10:0</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>C12:0</b>	0	0	0	0	0,25	0,05	0
<b>C14:0</b>	0,05	0	0	0,25	1,25	0,1	1,25
<b>C16:0</b>	12	4,5	6,5	10,5	42,5	13,5	26
<b>C16:1</b>	2,15	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,75
<b>C18:0</b>	2	1	5	4	5	3	2,5
<b>C18:1</b>	75	59	24	19,5	10,5	37,5	18,5
<b>C18:2</b>	9	20	63,5	52,5	9	50	51,5
<b>C18:3</b>	0,75	8,5	0,35	7,5	0,25	1	0,25
<b>C20:0</b>	0,25	0,5	0	0,5	0,25	0,5	0,25
<b>C20:1</b>	0,1	2,5	0	0,25	0	0,25	0,25
<b>C22:0</b>	0,1	0,25	0,5	0,5	0	0,25	0,25
<b>C22:1</b>	0	2,5	1,5	0	0	0	0
<b>C24:0</b>	0	0	0	0	0	0	0

Aunque el FAME posee grandes ventajas medioambientales, resulta ser un material activo superficialmente, ya que es capaz de adherirse a las paredes de metal de los contenedores y tuberías por los que circula y contaminar las cadenas de suministro que transportan

diferentes tipos de combustibles (Figura 22), entre ellos el combustible para aviones (queroseno), dando lugar a una contaminación cruzada.



**Figura 22:** Esquema general de la cadena de distribución de productos petrolíferos

A concentraciones suficientemente altas de FAME puede alterarse la estabilidad térmica del combustible, originándose coque en el sistema. Además, la presencia de FAME en el combustible puede afectar a su punto de congelación dando lugar a la formación de gel a bajas temperaturas [136]. Por otra parte, el biodiésel puede presentar crecimiento bacteriano que puede conducir a la obstrucción de los filtros y de los sistemas de conducción del combustible. Como consecuencia, todos estos efectos pueden dar problemas en el funcionamiento de los motores de los aviones poniendo en peligro la seguridad del vuelo.

Debido a estos problemas, se ha originado una gran preocupación entre las aerolíneas y los fabricantes de motores, por lo que se ha aprobado el uso del combustible de aviación con un contenido inferior a 5 ppm ( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) de FAME [137], aunque un reciente estudio llevado a cabo por el Instituto de la Energía (Energy Institute, Londres, Inglaterra) indica que el combustible para aviones que contiene hasta 30 ppm de FAME no presenta riesgos para la seguridad del vuelo [138].

La determinación de bajas concentraciones de FAME en queroseno presenta enormes dificultades debido a la complejidad de la muestra. Existe un método de referencia, IP PM-DY/09 [139] (la nueva versión IP 585/10 [140]) que se utiliza para la determinación de FAME en dicha matriz y consiste en un análisis mediante GC-MS trabajando en modo SIM y SCAN. Debido a posibles coeluciones de los compuestos en estas muestras complejas, los resultados obtenidos con GC-MS en modo SCAN, a menudo están sujetos a error, por lo que resulta necesario trabajar en modo SIM para determinar concentraciones traza de FAME.

Gracias a las múltiples ventajas de la cromatográfica bidimensional frente a la cromatográfica unidimensional, la técnica GC×GC acoplada a un detector FID se ha considerado [137] como una alternativa para determinar bajas concentraciones de FAME en combustible de aviación, según un método desarrollado por Shell Research Ltd (RTS Report GS.06.50289), aunque dicho método no ha sido publicado.

Se ha desarrollado un método para la caracterización y cuantificación de FAME en queroseno mediante GC×GC-FID y los resultados obtenidos se han comparado con el método de referencia IP PM-YD/09. El desarrollo del método consistió primero en la optimización de las columnas y las condiciones cromatográficas en el sistema GC×GC-TOFMS, siendo la fase inversa la combinación de columnas más adecuada. Después el método se transfirió al sistema GC×GC-FID por ser el detector FID más apropiado para análisis de rutina.

Las especies de FAME que se estudiaron durante el desarrollo del método (ver Tabla 3) se escogieron según la norma IP PM-YD/09 porque suponen normalmente el 95% del total de FAME en un aceite vegetal (ver Tabla 2), la especie C17:0 se incluyó en el experimento para contemplar los casos en que el FAME sea de origen animal.

Por último, se analizaron varias muestras de queroseno tanto con el método desarrollado como con el método de referencia con el fin de realizar un estudio estadístico comparativo de ambos métodos.

**Tabla 3:** Ésteres metílicos de ácidos grasos utilizados para el desarrollo del método según la norma IP PM-YD/ 09

FAME	Fórmula molecular	Símbolo	Iones SIM de cuantificación
Metil hexadecanoato (metil palmitato)	$C_{17}H_{34}O_2$	C16:0	227, 239, 270, 271
Metil heptadecanoato (metil margarato)	$C_{18}H_{36}O_2$	C17:0	241, 253, 284
Metil octadecanoato (metil estearato)	$C_{19}H_{38}O_2$	C18:0	255, 267, 298
Metil octadecenoato (metil oleato)	$C_{19}H_{36}O_2$	C18:1	264, 265, 296
Metil octadecadienoato (metil linoleato)	$C_{19}H_{34}O_2$	C18:2	262, 263, 264, 294, 295
Metil octadecatrienoato (metil linolenato)	$C_{19}H_{32}O_2$	C18:3	236, 263, 292, 293

## 4.2. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.2.1. Patrones

Se utilizaron patrones comerciales de FAME (ver Tabla 3) adquiridos en Fluka Analytical con una pureza del 99 %, excepto para C18:2 que fue de 98,5 %.

### 4.2.2. Preparación de patrones. Curvas de calibrado

Se prepararon dos disoluciones madre, STD 1 y STD 2, de  $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  de cada especie de FAME disueltas en n-dodecano. Ambas disoluciones se guardaron a 4 °C por un período no superior a tres meses. Los patrones fueron preparados diariamente. La disolución STD 1 se utilizó para preparar por dilución los patrones de 0,5, 3, 10 y  $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Con la disolución STD 2 se prepararon los patrones 1, 2, 5 y  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

### 4.2.3. Muestras

Para el desarrollo del método se analizaron dos tipos de muestras:

- Seis muestras de queroseno preparadas en el laboratorio: A, B, C, D, E y F; dopadas con FAME a diferentes niveles de concentración.
- Diez muestras reales de queroseno (K1-K10) recogidas de diferentes distribuidores en distintos puntos geográficos de España

#### 4.2.4. Sistemas cromatográficos

##### 4.2.4.1. GC-MS

Como se indica en el método IP PM-DY/09, se utilizó una columna polar (HP-INNOWax 50 m × 0,2 mm × 0,4 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA). Un volumen de 1 µL de muestra fue inyectado a 290 °C en modo *splitless*. La temperatura inicial del horno fue de 150 °C, se mantuvo durante 1 min y se incrementó hasta los 200 °C a 20 °C·min<sup>-1</sup>; esta temperatura se mantuvo durante 17 min, a continuación se incrementó hasta los 252 °C a 3 °C·min<sup>-1</sup> y se mantuvo durante 2 min. El flujo de gas se mantuvo constante a 0,6 mL·min<sup>-1</sup>. Las temperaturas de la fuente y del detector MS fueron de 230 y 150 °C, respectivamente.

##### 4.2.4.2. GC×GC

Se empleó una columna polar en la primera dimensión (HP-INNOWax, 28 m × 0,25 mm × 0,25 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) y una columna apolar en la segunda (Equity-1, 1 m × 0,25 mm × 0,25 µm, Supelco, PA, USA). Los detectores empleados en este experimento fueron el FID y el TOFMS.

Tanto las condiciones cromatográficas de GC×GC-FID como de GC×GC-TOFMS fueron optimizadas y están recogidas en la Tabla 4.

### 4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.3.1. Elección de columnas cromatográficas para el sistema GC×GC

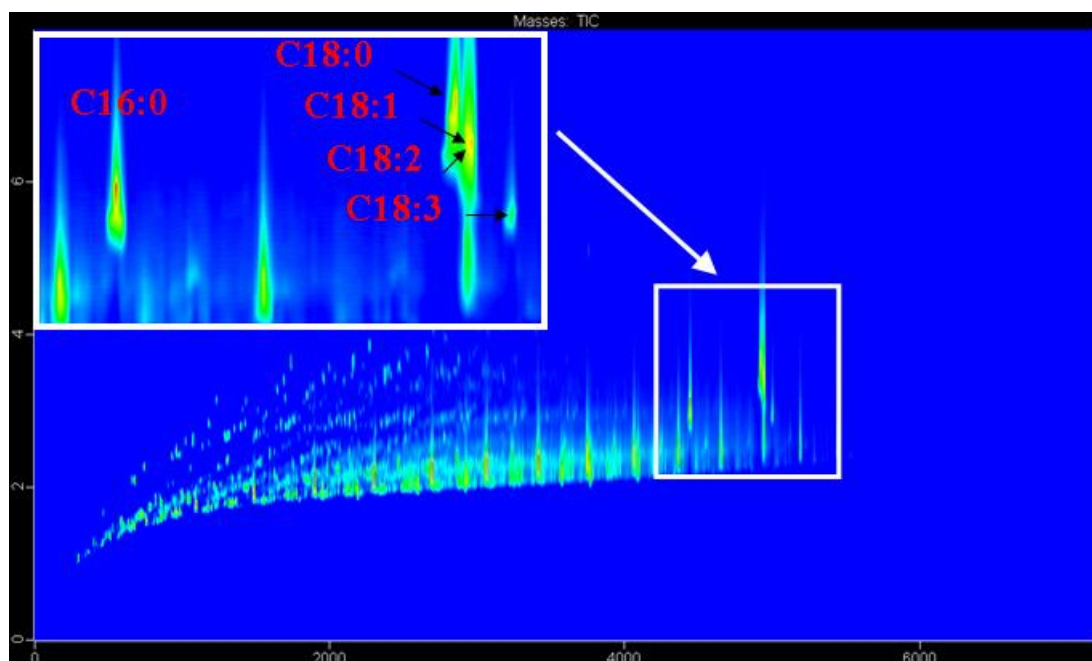
Un sistema GC×GC normalmente emplea la combinación de columna (apolar × polar) (ver sección 2.1.1). Este tipo de combinación se considera el más óptimo para conseguir una separación ortogonal [29] [18]. Seeley et al. analizaron mezclas de biodiésel con FAME [130] empleando como primera columna una 5 % difenil 95 % dimetilpolisiloxano y como segunda columna una polietilenglicol. Además, recientemente Seeley et al. [141] consiguieron una

separación total de las especies de FAME de una matriz de queroseno utilizando en la primera dimensión una columna con fase estacionaria 50 % fenilmetilpolisiloxano, mientras que en la segunda dimensión emplearon una columna cuya fase estacionaria era polimetiltrifluoropropilsiloxano. En ambos casos, las especies de FAME se separaron de la matriz hidrocarbonada. Sin embargo, esta combinación de columnas no consiguió separar las especies insaturadas de FAME; de hecho, las especies C18:1, C18:2 y C18:3 coeluyeron.

La coelución de las especies insaturadas de FAME en fase normal se verificó analizando una muestra de queroseno dopada con FAME trabajando con el sistema GC×GC-TOFMS y con una columna 100 % dimetilpolisiloxano, 40 m × 0,32 mm × 0,25 μm (DB-PETRO, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) y una polietilenglicol 2 m × 0,25 mm × 0,25 μm (HP-INNOWax, J&W Scientific, Folsom, CA, USA), como primera y segunda columna, respectivamente. Como se ve en la Figura 23, las especies de FAME no se separan por completo de los compuestos saturados de la matriz, ya que el FAME eluye justo por encima de las parafinas y dentro de la zona de los naftenos. Además, al igual que en los trabajos mencionados anteriormente ([141] [130]), esta combinación de columnas no fue capaz de separar las especies insaturadas de FAME C18. Al no separarlas, resultar difícil su cuantificación de forma individual y, por tanto, no es posible determinar con certeza la procedencia del FAME es decir, el tipo de aceite empleado para su producción.

La combinación de columnas en modo reverso (polar × apolar) se considera menos ortogonal [31], pero este modo ha demostrado ofrecer una mayor separación de los compuestos aromáticos en el espacio del cromatograma para la caracterización de los destilados medios [98] y a su vez proporciona una mayor separación de las especies de FAME. Adam et al [129] utilizaron la combinación de columnas (polar × apolar) para caracterizar FAME en gasóleo al 5 %. Observaron que las especies de FAME eluían dentro de la región de los compuestos aromáticos, aunque debido a la alta concentración de las especies de FAME en el diésel, fue posible su identificación.

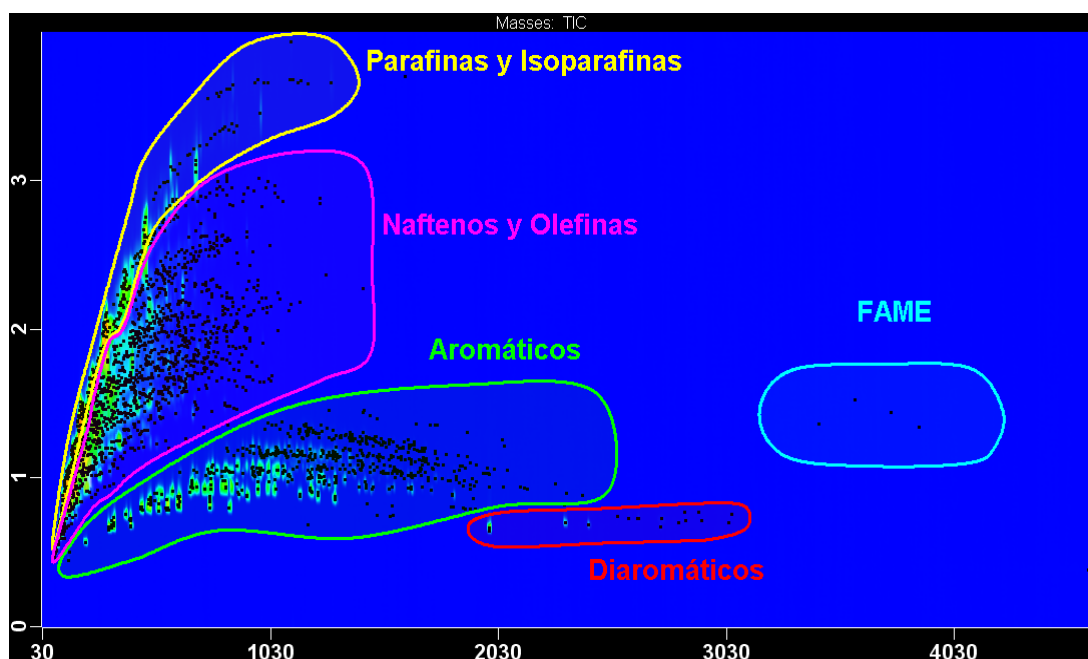




**Figura 23:** Cromatograma de color 2D de un queroseno comercial dopado con FAME obtenido con GC×GC-TOFMS en fase normal. Ampliación en la zona de elución de las especies de FAME

En el caso del queroseno, por ser un corte más ligero, el contenido en aromáticos normalmente es menor que en el diésel. El FAME no llega a coeluir con los compuestos aromáticos, permitiendo así su cuantificación a niveles traza con exactitud (ver Figura 24).

Por consiguiente, en este desarrollo la caracterización de FAME en muestras de queroseno se llevó a cabo trabajando en “fase inversa”. La primera columna fue una polietilenglicol (HP-INNOWax, 28 m × 0,25 mm × 0,25 μm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA), mientras que la segunda columna fue una metilpolisiloxano (Equity-1, 1 m × 0,25 mm × 0,25 μm, Supelco, PA, USA). Como se muestra en la Figura 24, el juego de columnas empleado en el sistema proporcionó una mejor separación de FAME y el resto de los compuestos hidrocarbonados presentes en la muestra. Gracias a la nueva combinación de polaridades, la mayor parte de la matriz de queroseno eluyó al principio del cromatograma 2D, mientras que los compuestos de FAME salieron al final, evitando cualquier coelución. Además, las especies C18 de FAME, C18:0, C18:1, C18:2 y C18:3, se separaron cada una de ellas y ahora se pueden distinguir claramente en el cromatograma, lo que justifica finalmente el empleo de la cromatografía bidimensional en modo fase inversa.



**Figura 24:** Cromatograma de color 2D de queroseno comercial dopado con 10 ppm de FAME obtenido con GC×GC-FID en fase inversa.

#### 4.3.2. Optimización de las condiciones cromatográficas GC×GC

Una vez elegida la combinación de columnas más adecuada se procedió a la optimización de las condiciones cromatográficas en el sistema GC×GC-TOFMS [142] [142] [143]. Las condiciones cromatográficas óptimas están recogidas en la Tabla 4.

Para la optimización cromatográfica, tanto para GC×GC-TOFMS como para GC×GC-FID, se trabajó con un patrón estándar de 50  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de FAME en n-dodecano y una muestra de queroseno dopada con 10  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de biodiésel. Dichas concentraciones son fácilmente detectables, sin embargo, para poder detectar niveles traza de FAME se consideró necesario inyectar 1  $\mu\text{L}$  de muestra en modo *splitless*. Acorde con la volatilidad de los FAME y la matriz de queroseno, el intervalo de temperatura estudiado para los dos hornos se ajustó entre 60 y 220 °C. Teniendo en cuenta que los compuestos de FAME eluyen al final del cromatograma, fue posible establecer la temperatura inicial de 130 °C, de forma que la mayor parte de la matriz de queroseno eluyó al principio más rápidamente y el análisis se acortó en tiempo. El tiempo de modulación ( $P_M$ ) se estudió en el intervalo de 3 a 6 segundos, siendo el  $P_M = 6$  s, el más adecuado, al ocupar los compuestos todo el espacio cromatográfico y no presentar *wrap-around*.

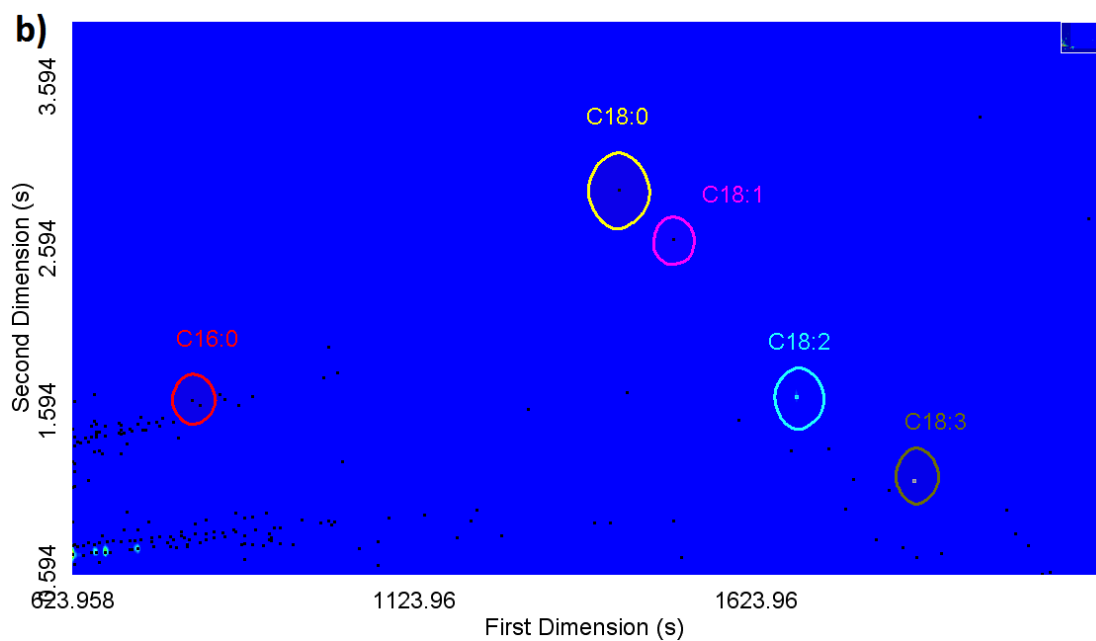
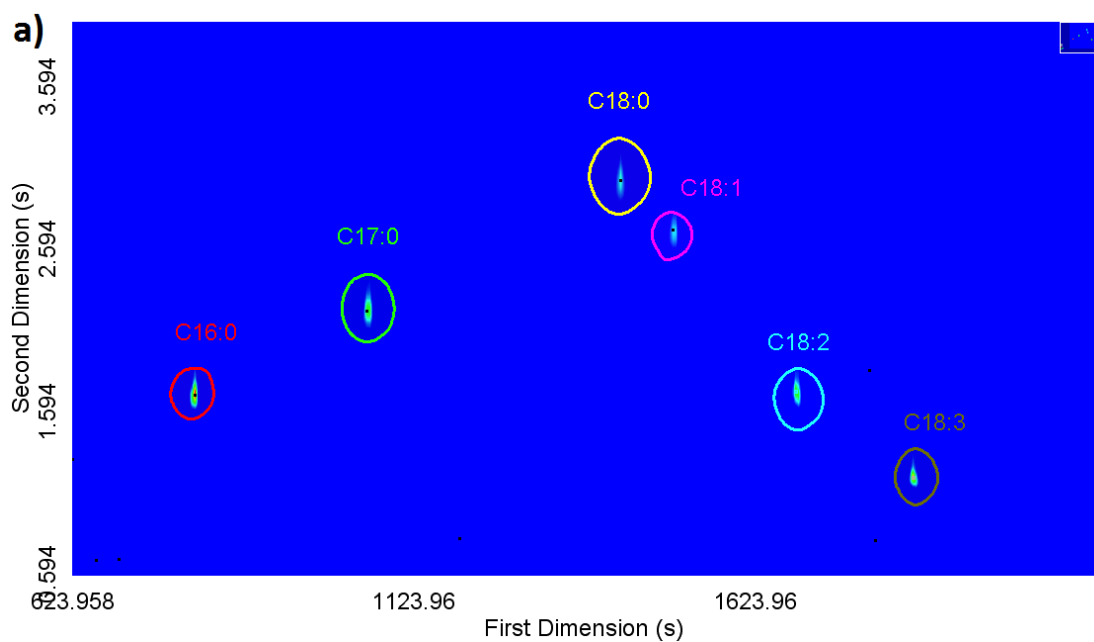
**Tabla 4:** Condiciones cromatográficas optimizadas para GC×GC-TOFMS y GC×GC-FID

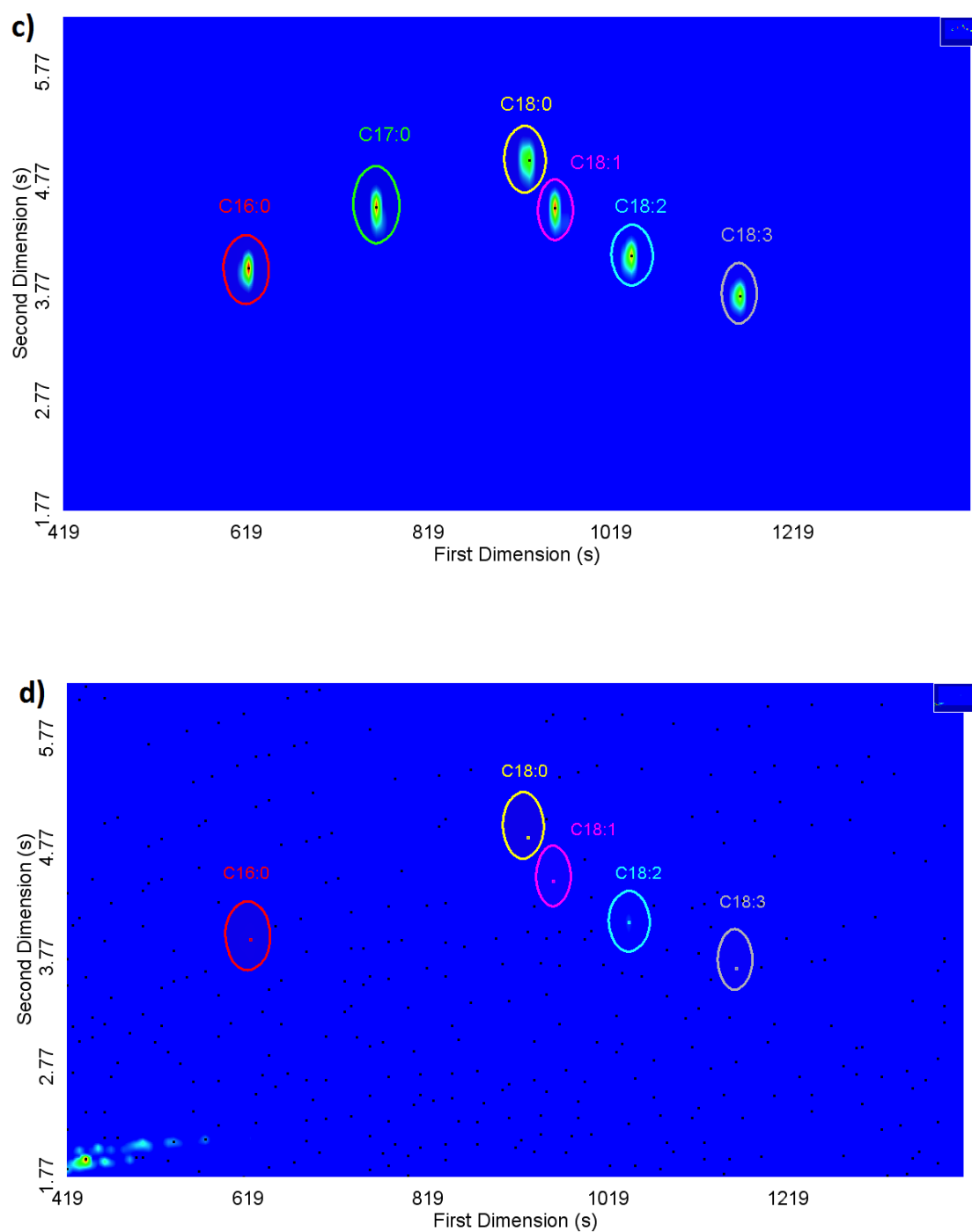
	GC×GC-TOFMS	GC×GC-FID
Columnas	Primera columna: HP-INNOWax (28 m × 0,25 mm × 0,25 μm) Segunda columna: Equity-1 (1 m × 0,25 mm × 0,25 μm)	
Inyección	1 μL <i>splitless</i> a 300 °C	
Caudal	1,0 mL·min <sup>-1</sup> He	2,0 mL·min <sup>-1</sup> He
Modulación	30 °C por encima del primer horno	
	6 s P <sub>M</sub> , Chorro caliente: 0,6 s	7 s P <sub>M</sub> , Chorro caliente: 0,6 s
Temperatura	Primer horno: 130 °C hasta 165 °C a 10 °C·min <sup>-1</sup> , 165 °C hasta 220 °C a 2 °C·min <sup>-1</sup> . Segundo horno: 15 °C por encima de la Tª del primer horno	Primer horno: 130°C hasta 165 °C a 10 °C·min <sup>-1</sup> , 165°C hasta 210 °C a 2 °C·min <sup>-1</sup> . Segundo horno: 15 °C por encima de la Tª del primer horno
Detector	T <sub>FUENTE</sub> : 250 °C T <sub>LÍNEA DE TRANSFERENCIA</sub> : 225 °C	Temperatura: 350 °C H <sub>2</sub> /Aire: 40/450 mL·min <sup>-1</sup>

En la Figura 25 se observa la buena separación que se ha conseguido entre las especies de FAME y la matriz de queroseno con las condiciones cromatográficas optimizadas; por otra parte, las cuatro especies de C18 siguen estando separadas completamente, lo que facilita su cuantificación.

Durante el desarrollo, el sistema GC×GC-TOFMS se empleó inicialmente para realizar una evaluación preliminar de la cromatografía bidimensional y para una identificación más fiable de los compuestos. Una vez que el sistema GC×GC-TOFMS fue optimizado, el método se transfirió al sistema GC×GC-FID como método de rutina para poder determinar y cuantificar FAME en queroseno, ya que un sistema GC×GC-TOFMS para este fin se considera demasiado costoso y no presenta ventajas claras con respecto al método de GC-MS. En cambio, el sistema GC×GC-FID puede resultar ser una buena alternativa, ya que por su gran poder de separación evita posibles problemas de coelución y no necesita un detector específico como es el caso de la cromatografía 1DGC. Además, el detector FID siempre se ha preferido como detector de rutina debido a su amplio intervalo lineal y su simple procedimiento de calibración. Como se mencionó anteriormente, se asume que la respuesta de los hidrocarburos en el detector FID, no está influenciada por la naturaleza química del

compuesto; sin embargo, la respuesta del detector sí que se ve influenciada por el número de insaturaciones y de carbonos en el compuesto [144].





**Figura 25:** Ampliación en cromatograma de color de un patrón estándar de 50  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de FAME en n-dodecano obtenido mediante GCxGC-TOFMS (a) y GCxGC-FID (c); muestra de queroseno dopada con 10  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de biodiésel obtenido mediante GCxGC-TOFMS (b) y GCxGC-FID (d). La ausencia de FAME C17 en las figuras (b) y (d) indica que el biodiésel no es de origen animal sino vegetal.

El traspaso del método al sistema GC×GC-FID, requirió una optimización de las condiciones cromatográficas, las cuales se muestran en la Tabla 4. Inicialmente, se utilizó el mismo  $P_M$  (6 s) que en el sistema GC×GC-TOFMS, pero se obtuvo una peor separación de los compuestos de FAME y se observó *wrap-around* en la segunda dimensión. La razón por la que no resultó adecuado un  $P_M$  de 6 s en el sistema GC×GC-FID puede deberse a que el detector FID trabaja a presión atmosférica en la salida y en ausencia de vacío propio del TOFMS [145]. Por esta razón, se probaron tiempos de modulación y flujos más altos, siendo el  $P_M = 7$  s y un flujo de  $2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  los que resultaron ser los óptimos. Como se ve en la Figura 25, con las condiciones optimizadas para el sistema GC×GC-FID, se obtuvo una separación muy similar a la del sistema GC×GC-TOFMS.

#### 4.3.3. Validación del método: Comparación con método de referencia.

El método desarrollado se validó mediante una comparación con el método de referencia IP PM-YD/09; por tanto, la cuantificación llevada a cabo por el sistema GC×GC-FID es la misma que se describe en el método de referencia. De acuerdo con dicho método es necesario preparar dos rectas de calibrado, una para el intervalo alto y otra para el intervalo bajo de concentración. Además, las rectas de calibrado se fuerzan a pasar por el cero, no teniendo en cuenta la ordenada en el origen, ya que se supone que el blanco no presenta picos correspondientes a las especies de FAME. Dependiendo de la concentración de cada una de las especies se eligió una u otra recta de calibrado para su cuantificación.

La identificación de FAME se basó en los tiempos de retención obtenidos de cada especie al inyectar una disolución multipatrón.

Para la validación del método se prepararon las disoluciones patrón descritas en la sección 4.2.2 y se analizaron por GC×GC-FID y por GC-MS; tanto los patrones como las muestras se inyectaron cuatro veces. La integración de los picos mediante GC×GC-FID se llevó a cabo sumando el área de cada pico modulado, promediando finalmente el valor obtenido de las cuatro réplicas.

La Tabla 5 muestra los datos de validación obtenidos tanto con el sistema GC×GC-FID como con el método con GC-MS. Como puede observarse, los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de las dos curvas de calibrado obtenidas mediante GC×GC-FID son superiores a 0,999, mientras que para GC-MS (SIM) los  $R^2$  son menores y especialmente los de la curva de

intervalo bajo de concentración. Además, los factores de respuesta en el sistema GC×GC-FID son similares para las seis especies de FAME, siendo algo más bajos para las especies insaturadas, tales como C18:1, C18:2 y C18:3 [144]. Sin embargo, siguen siendo más altos que en el sistema GC-MS (SIM), lo que da lugar a límites de detección más bajos con la técnica bidimensional.

Cabe destacar que según el método de referencia, es necesario preparar dos curvas de calibrado, como se ha mencionado anteriormente. Teniendo en cuenta el amplio intervalo de trabajo que presenta el detector FID, se podría eliminar la curva de intervalo bajo y trabajar con una sola recta de calibrado que abarcara todo el intervalo de concentración. Esto supondría un ahorro de tiempo en el análisis.

**Tabla 5:** Resultados de validación para el sistema GC-MS (SIM) y el GC×GC-FID. LOD y LOQ se calcularon considerando 3 y 10 veces, respectivamente, la SD de la relación S/N, después de realizar 10 inyecciones de un queroseno comercial libre de FAME.

	LOD (mg·kg <sup>-1</sup> )	LOQ (mg·kg <sup>-1</sup> )	Intervalo bajo de concentración	R <sup>2</sup>	Intervalo alto de concentración	R <sup>2</sup>
<b>GC-MS (SIM)</b>						
C16:0	0,009	0,014	$y=(1,16\pm0,07)\cdot10^6x$	0,994	$y=(1,25\pm0,03)\cdot10^6x$	0,999
C17:0	0,008	0,013	$y=(1,14\pm0,07)\cdot10^6x$	0,993	$y=(1,16\pm0,03)\cdot10^6x$	0,999
C18:0	0,008	0,013	$y=(1,22\pm0,07)\cdot10^6x$	0,993	$y=(1,16\pm0,03)\cdot10^6x$	0,999
C18:1	0,017	0,026	$y=(6,0\pm0,3)\cdot10^5x$	0,993	$y=(6,4\pm0,1)\cdot10^5x$	0,999
C18:2	0,024	0,034	$y=(4,2\pm0,2)\cdot10^5x$	0,992	$y=(4,4\pm0,1)\cdot10^5x$	0,999
C18:3	0,074	0,086	$y=(1,3\pm0,1)\cdot10^5x$	0,992	$y=(1,3\pm0,1)\cdot10^5x$	0,998
<b>GC×GC-FID</b>						
C16:0	0,006	0,010	$y=(1,65\pm0,02)\cdot10^7x$	0,999	$y=(1,67\pm0,01)\cdot10^7x$	0,999
C17:0	0,006	0,010	$y=(1,64\pm0,03)\cdot10^7x$	0,999	$y=(1,65\pm0,01)\cdot10^7x$	0,999
C18:0	0,003	0,006	$y=(1,63\pm0,02)\cdot10^7x$	0,999	$y=(1,67\pm0,01)\cdot10^7x$	0,999
C18:1	0,003	0,006	$y=(1,66\pm0,03)\cdot10^7x$	0,999	$y=(1,64\pm0,02)\cdot10^7x$	0,999
C18:2	0,003	0,007	$y=(1,59\pm0,03)\cdot10^7x$	0,999	$y=(1,63\pm0,01)\cdot10^7x$	0,999
C18:3	0,004	0,007	$y=(1,24\pm0,02)\cdot10^7x$	0,999	$y=(1,26\pm0,01)\cdot10^7x$	0,999

#### 4.3.4. Análisis de muestra mediante GC×GC-FID y GC-MS

Después de la validación del método se analizaron varias muestras de queroseno comercial (A-F) dopadas con FAME mediante ambos sistemas con el fin de comparar resultados. La

concentración individual de las especies de FAME se calculó mediante sus respectivas rectas de calibrado, obtenidas en la sección anterior; al sumar las seis concentraciones se determinó la concentración de FAME total en la muestra. Además, debido a la diferencia de densidades que hay entre las muestras y el n-dodecano, y de acuerdo con el método de referencia, resultó necesario aplicar un factor de corrección de densidades a las concentraciones calculadas a partir de las disoluciones patrón.

Los datos obtenidos están recogidos en la Tabla 6. Se puede observar que se obtuvieron concentraciones similares y datos de recuperación mediante ambos métodos, excepto, para la muestra B (con la concentración más baja) cuyo valor es más alto en la técnica unidimensional.

**Tabla 6:** Concentración de las especies de FAME individuales y de FAME total de seis muestras diferentes de queroseno dopadas con FAME obtenidas mediante GC-MS (SIM) y GC×GC-FID. Los datos de concentración vienen dados en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , mientras que los de desviación estándar relativa (RSD) y los de recuperación vienen dados en %.

		Muestra A $5,40\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Muestra B $0,54\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Muestra C $50,28\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Muestra D $100,56\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Muestra E $3,24\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Muestra F $25,14\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
GC-MS (SIM)	C16:0	1,12	0,18	9,99	19,45	0,65	5,20
	C17:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	C18:0	0,22	ND	2,14	4,17	0,14	1,04
	C18:1	1,55	0,24	14,09	27,54	0,97	6,76
	C18:2	2,23	0,26	20,44	40,05	1,31	9,79
	C18:3	0,32	ND	3,05	5,89	0,20	1,46
	Total	5,45	0,68	49,70	97,10	3,27	24,24
	RSD	1,85	5,31	2,07	3,18	1,97	3,65
	Recuperación	100,9	125,9	98,8	96,55	100,9	96,42
GC×GC- FID	C16:0	1,31	0,06	10,60	20,92	0,46	5,57
	C17:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	C18:0	0,30	ND	2,29	4,43	0,13	1,19
	C18:1	1,57	0,24	15,33	29,69	1,04	7,03
	C18:2	2,01	0,27	20,20	41,11	1,38	10,30
	C18:3	0,34	ND	2,69	5,48	0,24	1,63
	Total	5,53	0,57	51,10	101,63	3,25	25,72
	RSD	0,66	0,77	0,58	0,35	0,94	0,55
	Recuperación	102,4	105,5	101,6	101,1	100,3	102,3

Además de las muestras dopadas, se analizaron otras diez muestras de queroseno (K1-K10) recogidas del mercado español, con el propósito de evaluar la bondad del nuevo método. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 7. Según los datos, ambos métodos proporcionaron resultados muy parecidos, lo que demuestra la validez del método desarrollado mediante GC×GC-FID.

Lo que respecta a las muestras, más de la mitad tenían una concentración inferior a 0,5



$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Sin embargo, en el resto de las muestras sí que se detectó FAME a niveles traza e incluso se sobrepasan las 4 ppm en una de ellas, próximo al límite permitido de concentración de FAME en queroseno [137]. Esto demuestra que realmente se produce una contaminación del queroseno con FAME durante su distribución, aunque en ningún caso, las cantidades detectadas suponen un riesgo para la seguridad.

**Tabla 7:** Concentración de FAME total obtenida de diez muestras diferentes de queroseno determinadas por GC-MS (SIM) y GC×GC-FID.

	GC-MS(SIM)	GC×GC-FID
Queroseno 1	0,9	0,8
Queroseno 2	<0,5	<0,5
Queroseno 3	<0,5	<0,5
Queroseno 4	4,3	4,2
Queroseno 5	<0,5	<0,5
Queroseno 6	1,5	1,7
Queroseno 7	<0,5	<0,5
Queroseno 8	<0,5	<0,5
Queroseno 9	<0,5	<0,5
Queroseno 10	1,3	1,3

\*Concentración total de FAME en queroseno expresada en  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

#### 4.3.5. Estudio estadístico

Para evaluar la precisión del método desarrollado con el equipo GC×GC-FID, se compararon los resultados obtenidos por ambos métodos mediante el análisis de varianza, ANOVA.

El conjunto de datos está formado por el valor de la concentración total de FAME obtenida de las muestras de queroseno dopadas (A, B, C, D, E y F) y las dos técnicas analíticas empleadas (Técnica 1, GC-MS (SIM), y Técnica 2, GC×GC-FID).

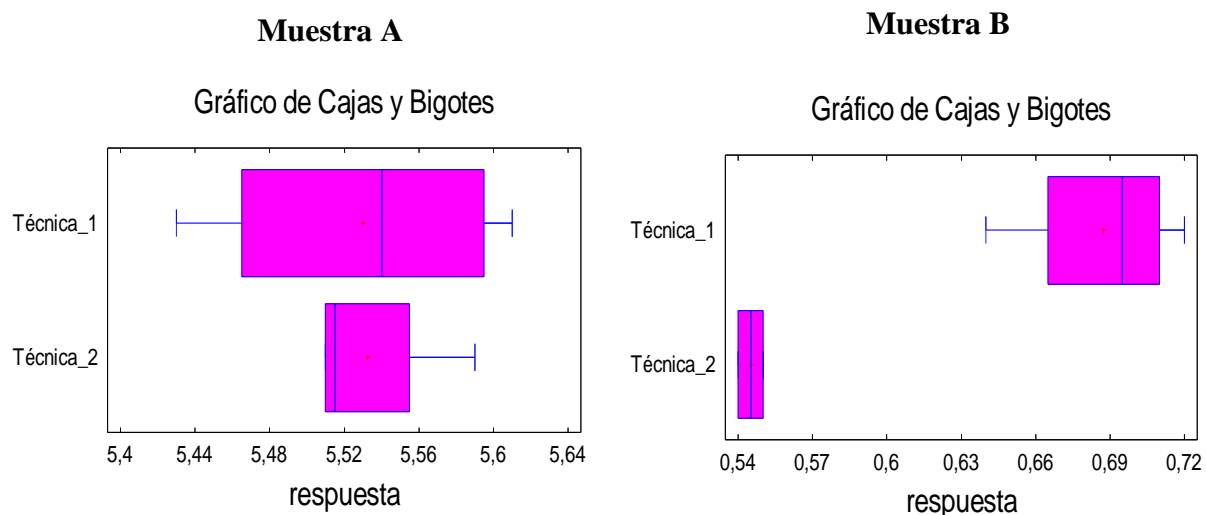
El análisis ANOVA (Tabla 8) revela que hay diferencias significativas ( $F > 4$  y  $p < 0,05$ ) a 95 % del nivel de confianza entre los dos métodos a altos y bajos intervalos de concentración, sobre todo para la muestra B ( $0,54 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Sin embargo, no hay diferencias significativas en el intervalo de concentración entre  $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de FAME total en queroseno.

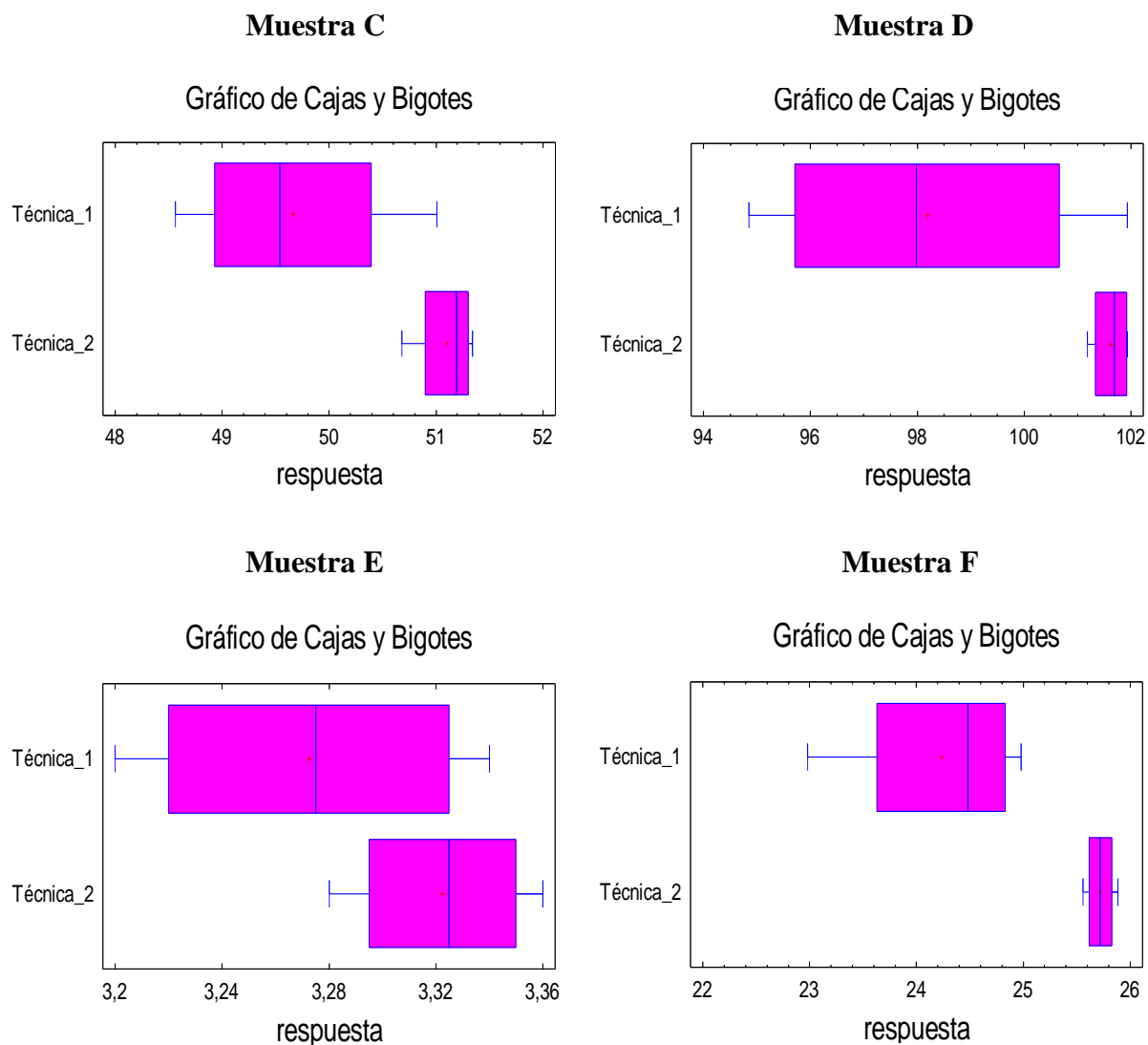
**Tabla 8:** Resultados análisis ANOVA. Comparación de los resultados obtenidos con los sistemas a 95 % de nivel de confianza. F = valor estadístico de test de Fischer, P = valor de la probabilidad

Muestra	F	p
B (0,54 mg·kg <sup>-1</sup> )*	68,16	0,0002
E (3,24 mg·kg <sup>-1</sup> )*	1,88	0,2193
A (5,40 mg·kg <sup>-1</sup> )*	0,00	0,9575
F (25,14 mg·kg <sup>-1</sup> )*	11,19	0,0155
C (50,28 mg·kg <sup>-1</sup> )*	7,22	0,0362
D (100,56 mg·kg <sup>-1</sup> )*	4,79	0,0712

\*Concentración total de FAME en queroseno.

Se construyeron los diagramas de Cajas y Bigotes con los resultados de las seis muestras (Figura 26). Éstos diagramas y la desviación estándar relativa (Tabla 6) muestran que para los seis niveles de concentración, la precisión del método desarrollado en GC×GC-FID es mayor que para el método GC-MS (SIM).





**Figura 26:** Gráficos de Cajas y Bigotes obtenidos para las seis muestras de queroseno dopadas con concentraciones conocidas de FAME. Los seis gráficos demuestran que la precisión de la Técnica 2 (GC×GC-FID) es mayor.

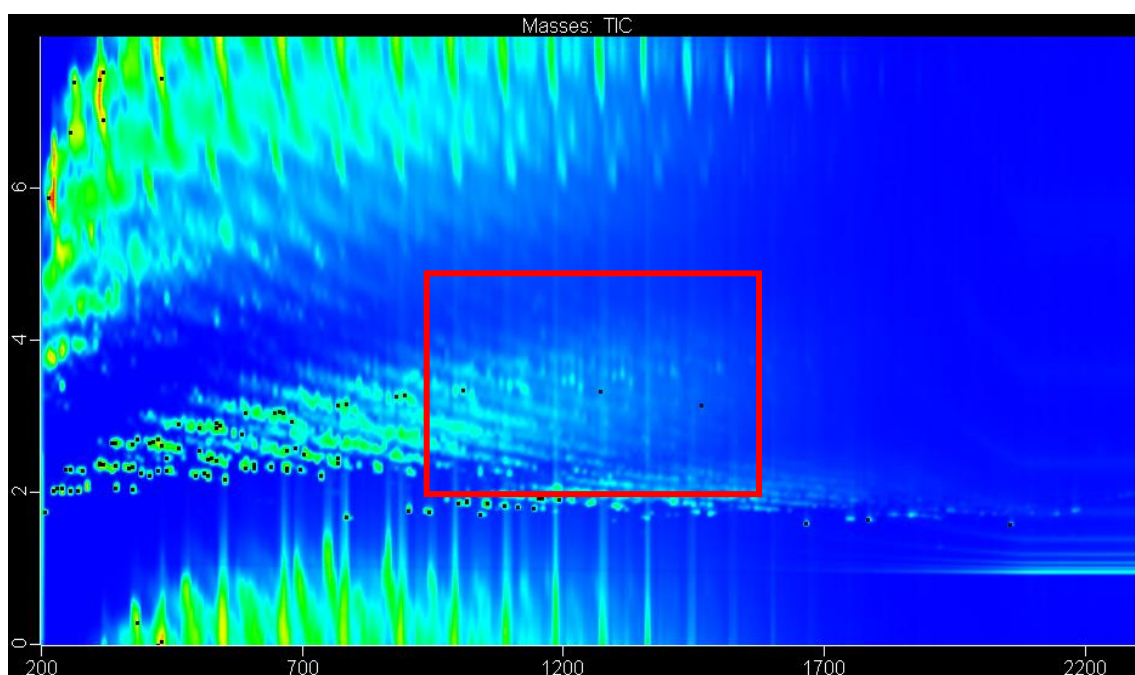
#### 4.3.6. Determinación de FAME en gasóleo. Modificación del método.

Como se ha indicado, el FAME puede contener insaturaciones en la cadena hidrocarbonada. Estos dobles enlaces pueden oxidarse lentamente dando lugar a numerosos productos de oxidación lo que conduce a un aumento del número ácido total (TAN) del combustible y a la formación de partículas insolubles que pueden bloquear los filtros. Por este motivo, no se recomienda el uso de FAME en combustibles que puedan ser almacenados durante mucho tiempo. Esto afecta a los combustibles marinos, para centrales térmicas y, como se ha descrito anteriormente, para combustible de aviación. Los combustibles marinos y los empleados en centrales térmicas son combustibles más pesados que los querosenos y por

sus características pertenecen al grupo de los gasóleos. Con respecto a los querosenos, los gasóleos presentan menor cantidad de compuestos saturados, pero un mayor contenido en aromáticos, concretamente con una mayor presencia de compuestos diaromáticos y triaromáticos. Además, por ser un corte más pesado el número de átomos de carbono que pueden presentar las moléculas hidrocarbonadas aumenta, entre C8 y C24. Por consiguiente, para poder determinar FAME en gasóleos ha sido necesario modificar el método desarrollado para queroseno.

Al igual que se hizo con las muestras de queroseno, las muestras de gasóleo se analizaron en fase inversa y en fase normal. Los resultados obtenidos en fase normal presentaron las mismas desventajas que en el caso de los querosenos es decir, los compuestos insaturados (C18:1, C18:2 y C18:3) no se pudieron separar (ver Figura 23). En el caso de la fase inversa, la principal dificultad que presentan los gasóleos a la hora de analizar FAME es su mayor contenido en compuestos aromáticos que coeluyen con las especies de FAME. En la Figura 27 se presenta un cromatograma 2D de una muestra de gasóleo dopada con los compuestos de FAME descritas en la Tabla 3 obtenido en fase inversa. En el cromatograma se ha resaltado la zona de elución de las especies de FAME que coincide justamente con la elución de los compuestos monoaromáticos más pesados. Además, el cromatograma presenta un *wrap-around* de los compuestos saturados, ya que eluyen tanto en la parte superior como en la parte inferior del cromatograma. Este *wrap-around* se podría haber evitado incrementando el tiempo de modulación. Sin embargo, se observó que un tiempo de modulación mayor empeoraba la separación de las especies de FAME (ver sección 7.3.1.3.), por lo que finalmente se estableció un PM = 8 s, aunque hubiese *wrap-around*, ya que no interferían nuevas coeluciones en la determinación de FAME.

En este caso, un detector no espectrométrico como es el FID no resulta adecuado, ya que no distingue los compuestos de FAME del resto de los compuestos aromáticos y, por tanto su cuantificación resultaría errónea. Por este motivo, se decidió emplear el sistema GC×GC-TOFMS para el desarrollo del método. Las condiciones cromatográficas optimizadas se describen en la Tabla 9.



**Figura 27:** Cromatograma 2D de una muestra de gasóleo dopada con FAME obtenida en fase inversa mediante GC×GC.

**Tabla 9:** Condiciones cromatográficas optimizadas para la determinación de FAME en gasóleo.

<b>Columna 1D</b>	HP-INNOWax (30 m × 0,250 mm × 0,25 µm)
<b>Columna 2D</b>	Equity-1 (2 m × 0,25 mm × 0,25 µm)
<b>Flujo en columna</b>	1,5 mL·min <sup>-1</sup> . Flujo constante
<b>Gas portador</b>	Helio
<b>Inyector</b>	<i>Split/Splitless</i>
<b>Modo inyección</b>	Split 1:20
<b>Volumen inyección</b>	0,5 µL
<b>Tª inyector</b>	300 °C
<b>Horno Principal</b>	Tª inicial: 70 °C Tiempo inicial: 0,2 min Rampa: 6 °C·min <sup>-1</sup> Tª final: 265 °C
<b>Horno Secundario</b>	Tª inicial: 90 °C Tiempo inicial: 0,2 min Rampa: 6 °C·min <sup>-1</sup> Tª final: 285 °C
<b>Tª Modulador</b>	30 °C por encima de la Tª del horno principal
<b>Periodo modulación</b>	8 s, chorro caliente 0,6 s
<b>Detector</b>	TOFMS
<b>Tª línea transferencia</b>	225 °C
<b>Tª fuente ionización</b>	250 °C
<b>Energía ionización</b>	70 eV

Las modificaciones más notables del nuevo método con respecto al desarrollado para muestras de queroseno son la longitud de la segunda columna y la temperatura de los dos hornos. Con el fin de mejorar la separación de los compuestos, en la segunda dimensión, se utilizó una columna de dos metros de longitud. Como se ha mencionado, las muestras de gasóleo contienen mayor cantidad de compuestos aromáticos, lo que dificulta la separación total de los compuestos de FAME. Por la misma razón, se empleó una rampa de temperatura más suave tanto en el primer como en el segundo horno y la temperatura inicial también fue menor. Además, por ser el gasóleo un corte más pesado, se tuvo que aumentar tanto la temperatura de inyección (300 °C) como la temperatura final de los hornos, llegando hasta los 285 °C en el segundo horno, para poder eluir todos los compuestos de las columnas.

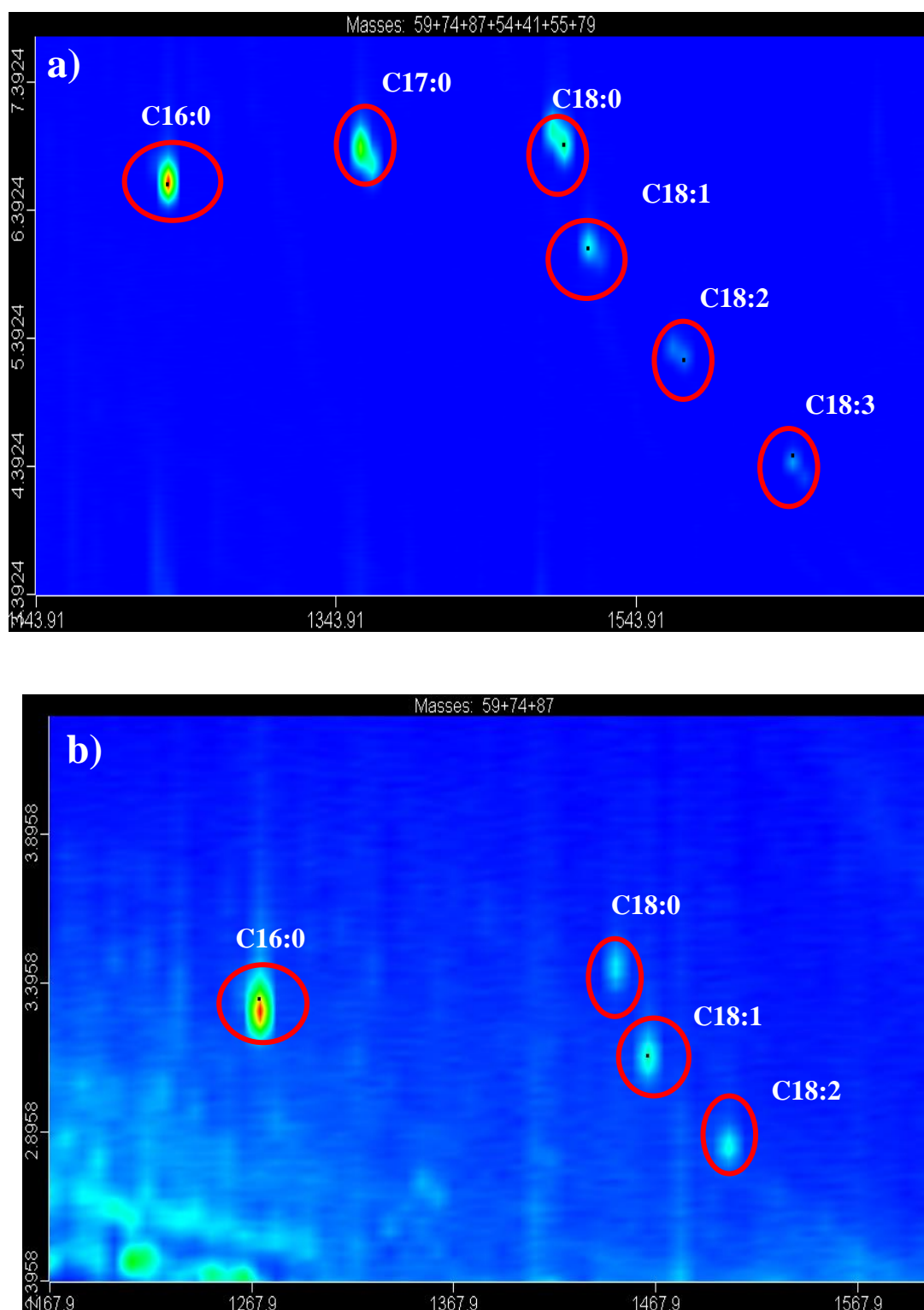
Se utilizó el TOFMS para la identificación de los compuestos mediante sus correspondientes espectros de masas. El área de los picos se calculó sumando el área de iones seleccionados para los compuestos de FAME indicados en la Tabla 10. La cuantificación de FAME se realizó mediante la construcción de rectas de calibrado del patrón externo para cada especie.

**Tabla 10:** Especies de FAME y sus correspondientes iones empleados en el método.

Fórmula	Especie detectada	Iones
C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	C16:0	74, 87, 59
C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	C17:0	74, 87, 59
C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	C18:0	74, 87, 59
C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	C18:1	74, 87, 59
C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	C18:2	74, 87, 59
C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	C18:3	74, 87, 59

En las Figuras 28(a) y 28(b) se presentan los cromatogramas 2D obtenidos al analizar un patrón de 5 ppm de cada especie de FAME y una muestra de gasóleo dopada con diésel, respectivamente, mediante GC×GC-TOFMS. Como se puede observar, en la Figura 28(a), a medida que aumenta el número de insaturaciones en la cadena hidrocarbonada del FAME (C18:1, C18:2 y C18:3) disminuye la intensidad de la señal. Esta disminución de la señal es similar a la observada en el sistema GC-MS al analizar los patrones de FAME, ya que, como se observa en la Tabla 5, la pendiente de las rectas de calibrado para la especie C18:3

disminuyó un orden de magnitud con respecto a la especie C16:0.



**Figura 28:** Ampliación en cromatogramas 2D de color de (a) un patrón estándar de  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  de FAME en n-dodecano y de (b) una muestra de gasóleo dopada con  $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  de biodiésel obtenidos mediante GC×GC-TOFMS.

#### **4.4. CONCLUSIONES**

En este trabajo se ha desarrollado y validado un método GC×GC-FID que permite la cuantificación de bajas concentraciones de FAME en queroseno de aviación. Se ha analizado una serie de muestras y los resultados obtenidos se han comparado con los obtenidos mediante método de referencia IP PM-YD/09. Este método estándar está basado en el sistema GC-MS (SIM) y se emplea en la industria petroquímica para la determinar la presencia de FAME en querosenos. Además, se ha realizado un análisis ANOVA en el que se ha demostrado que los resultados obtenidos con el método propuesto fueron significativamente más precisos que los del método de referencia.

Empleando una separación en dos dimensiones, las especies de FAME no coeluyen con la matriz hidrocarbonada. Por consiguiente, a pesar de la falta de selectividad del detector FID, se puede conseguir una correcta identificación de los analitos de interés sin necesidad de trabajar en modo SIM. Además, el análisis GC×GC-FID resultó ser más rápido que el análisis GC-MS. Por el contrario, el procesamiento de datos en un sistema bidimensional es más complejo que en la cromatografía convencional. Debido a la formación de picos modulados se genera mayor cantidad de datos que pueden alargar el tiempo de análisis y además, es necesario disponer de personal cualificado para el tratamiento de dichos datos. Por otro lado, un detector FID requiere un mantenimiento sencillo y se considera más robusto que el detector MS. Por lo que respecta al coste del sistema, un GC×GC-FID puede llegar a ser más barato que el equipo GC-MS, siempre y cuando el modulador del sistema GC×GC sea de flujo, debido a su menor precio y a que no emplea gases criogénicos que incrementan considerablemente el coste del análisis.

Finalmente, considerando los pros y los contras, el método desarrollado mediante GC×GC-FID podría ser recomendado para el análisis de FAME en queroseno siempre y cuando se disponga de dicha técnica.

Sin embargo, el método desarrollado con el sistema GC×GC-FID no fue suficiente para poder analizar FAME en gasóleos debido a la mayor complejidad de la matriz frente a la del queroseno. El gasóleo, al presentar un mayor contenido en aromáticos, interfirió en la identificación de los compuestos de FAME, por lo que en este caso se tuvo que recurrir a un detector espectrométrico y a la selección de iones característicos. Además del sistema, se



modificó la longitud de la columna, para optimizar la separación de los compuestos de FAME y el programa de temperaturas de los hornos, con el fin de eluir de la columna todos los compuestos presentes en la matriz.

# 5

## CAPITULO 5. Análisis PI(ON)A en destilados medios

### 5.1. *INTRODUCCIÓN*

Debido a las diferencias que existen entre la calidad de las distintas fracciones obtenidas por destilación y las que resultan de sus tratamientos posteriores, es importante un análisis detallado de las muestras petroquímicas para su caracterización, ya que permite predecir su comportamiento en posteriores procesos o aplicaciones.

El análisis comúnmente denominado PIONA es ampliamente solicitado en la industria del refino, ya que reporta el contenido en parafinas, isoparafinas, olefinas, naftenos y aromáticos presentes en las muestras. Este análisis detallado permite interpretar ciertos procesos químicos que se producen y evaluar su eficiencia, sean térmicos o catalíticos.

Se dispone de numerosos métodos que intentan caracterizar las muestras, con más o menos detalle, para obtener un análisis PIONA de las mismas. Como ejemplo, el método ASTM D2425 [146] proporciona el contenido, expresado en tanto por ciento de masa, de once familias hidrocarbonadas en destilados medios mediante la técnica de espectrometría de masas. Dichas familias son: parafinas, naftenos, dinaftenos, trinaftenos, alquilbencenos, indanos, indenos, naftalenos, acenaftenos, acenaftilenos y triaromáticos. Según este método, las muestras tienen que ser fraccionadas previamente en una fracción saturada y otra aromática según el proceso descrito en el método estándar, ASTM D 2549 [147]. A continuación, cada muestra se analiza en un espectrómetro de masas. La cuantificación de las familias se realiza sumando las alturas de los fragmentos y de los iones moleculares

obtenidos del espectro de cada una de las familias y se calcula el contenido utilizando matrices específicas con determinados coeficientes que dependen del número de átomos de carbono promedio de la muestra.

Por otra parte, existen los llamados analizadores PIONA basados en la técnica de cromatografía de gases que permiten determinar n-parafinas, iso-parafinas, olefinas, naftenos y aromáticos en gasolinas y naftas ligeras con un intervalo de destilación entre -42 y 216 °C [148]. Su principio de operación consiste en una combinación de trampas para hidrocarburos con mismo grupo funcional, columnas de separación y un hidrogenador de olefinas. Sin embargo, la principal desventaja de esta técnica es su limitado intervalo de trabajo, ya que puntos de ebullición por debajo de 200 °C corresponden a compuestos con once átomos de carbono. Quedan excluidos, por tanto, fracciones más pesadas como son los querosenos o los gasóleos. Además, el contenido de cada familia no puede sobrepasar la capacidad de las trampas del sistema, ya que al saturarse desvirtuaría el resultado.

Recientemente, la técnica GC×GC, por las ventajas que presenta, se ha empleado para analizar destilados más pesados, los llamados destilados medios [96] [141] [64] [102]. En dichos análisis normalmente se acoplan los detectores FID o TOFMS [27] [98] [149] [12]. Debido a que las muestras petroquímicas están formadas por miles de compuestos, se considera el detector FID como el más idóneo en análisis de rutina y de cuantificación, ya que, normalmente, se asume que las moléculas tienen un factor de respuesta similar cuando pertenecen a la misma familia. Por otro lado, el detector TOFMS ofrece altas velocidades de adquisición, selectividad y herramientas de deconvolución [142], por lo que se utiliza para análisis cualitativos es decir, cuando es necesaria una información estructural de los compuestos para obtener información inequívoca. Sin embargo, para análisis cuantitativos, el detector TOFMS no resulta adecuado debido a que sería necesario determinar el factor de respuesta de todos los compuestos que forman las muestras petroquímicas, lo que resulta ser totalmente inviable.

Cabe añadir que el detector FID tiene una sensibilidad más baja para compuestos con heteroátomos que el detector TOFMS, lo que dificulta el análisis traza de dichos compuestos [150] [151]. Además, la falta de selectividad del detector FID puede conducir a una incorrecta identificación de los compuestos, sobre todo cuando las muestras son muy complejas. Como ejemplo, las muestras de queroseno tienen un alto contenido en

compuestos alifáticos, lo que dificulta la separación cromatográfica de las parafinas y los naftenos. Si se trabaja con un detector FID, la coelución de dichas familias conlleva una errónea cuantificación debido a una incorrecta identificación. Para resolver este problema, recientemente F. Adam et al [117], emplearon una columna quiral con  $\beta$ -ciclodextrina permitilada en la segunda dimensión para mejorar la selectividad entre naftenos y parafinas. Sin embargo, debido a las limitaciones que presentan las columnas quirales, como es su elevado coste y su baja temperatura máxima de trabajo (200 °C) [152], el uso de estas columnas se limita a compuestos con un número de átomos de carbono inferior a 15.

Todos estos motivos crean la necesidad de emplear un detector que proporcione una información estructural de los compuestos para obtener una correcta identificación y cuantificación. Trabajos recientes han empleado los *scripts* para localizar e identificar los compuestos de manera más sencilla y rápida en muestras muy complejas [94] [95].

En el trabajo que se describe a continuación, gracias a una mayor sensibilidad y el alto poder de resolución e identificación de la técnica GC $\times$ GC-TOFMS se ha podido desarrollar un método para la caracterización detallada de muestras de queroseno y se ha logrado un análisis semicuantitativo de las principales familias que componen dichas muestras: n-parafinas, iso-parafinas, olefinas-naftenos y aromáticos, PI(ON)A.

Este método está basado en la correcta identificación de los compuestos mediante los *scripts*. Éstos, escritos en lenguaje Visual Basic, fueron desarrollados para cada una de las familias identificadas en el método. El uso de esta herramienta supuso un ahorro considerable de tiempo de análisis de muestras tan complejas.

La semicuantificación de las familias de compuestos se llevó a cabo mediante la suma de las áreas de los fragmentos característicos de cada familia y sus respectivos picos moleculares. Para asegurar la fiabilidad del método propuesto, las muestras fueron analizadas por métodos de referencia encontrando una buena concordancia en los resultados obtenidos.

## **5.2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **5.2.1. Muestras**

Las muestras de queroseno, con diferente composición de hidrocarburos, fueron suministradas por Repsol S.A. (K1-K8). La diferencia de composición de hidrocarburos es

debida a que las muestras sufrieron diferentes procesos de transformación. Las muestras K1, K4 y K7 son productos de *mild-hydrocracking*, las muestras K3 y K5 son productos de destilación, las muestras K6 y K8 fueron hidrocraqueadas y la muestra K2 es una mezcla entre un producto de destilación y un aceite vegetal.

Un volumen de 0,5  $\mu\text{L}$  de cada muestra se inyectó directamente en el sistema cromatográfico.

### 5.2.2. Sistema cromatográfico

En el sistema GC $\times$ GC-TOFMS se empleó una columna apolar en la primera dimensión (DB-5, 30 m  $\times$  0,32 mm  $\times$  0,25 $\mu\text{m}$ , 5% fenilmetilpolisiloxano, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) y una columna con polaridad media en la segunda dimensión (ZB-50, 2 m  $\times$  0,10 mm  $\times$  0,10  $\mu\text{m}$ , 50% difenildimetilpolisiloxano, Phenomenex, USA).

Se emplearon las herramientas de *Classification* y *Scripting* disponibles en el programa ChromaTOF (v. 4.21). La identificación de los compuestos se realizó mediante la librería NIST 2.0 (2008).

### 5.2.3. Métodos de referencia

#### 5.2.3.1. Determinación del contenido en aromáticos

La determinación de los diferentes tipos de hidrocarburos aromáticos en destilados medios se llevó a cabo según la norma IP 548/06 (ASTM D6591) [153]. La columna empleada fue una Zorbax NH2 (250 mm  $\times$  4,6 mm d.i ) empaquetada con partículas de 5  $\mu\text{m}$  de aminopropilsilano (Agilent Technologies, USA).

#### 5.2.3.2. Determinación del contenido en n-parafinas.

El contenido de n-parafinas en queroseno fue determinado utilizando el sistema GC-FID según un método interno de Repsol S.A validado y basado en el informe técnico CEN/TR 15522-2. Para el experimento se utilizó un sistema GC-FID con una columna apolar (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$ , DB-1, J&W Scientific, Folsom, CA, USA).

### 5.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 5.3.1. Elección de columnas cromatográficas para el sistema GC×GC-TOFMS

Para poder identificar el mayor número de compuesto que componen un destilado medio es preferible que la separación sea lo más ortogonal posible con el fin de obtener la máxima separación de los compuestos. Como se ha visto en la sección 2.1.1, la combinación de columnas (apolar × polar) presenta mayor ortogonalidad y es la combinación que más se utiliza para la caracterización de muestras petroquímicas. Por este motivo, para el desarrollo del método, se probaron cuatro sets de columnas con diferentes fases estacionarias en la segunda dimensión (Tabla 11), pero siempre manteniendo la combinación apolar × polar. Con esta disposición de columnas, al tener el queroseno normalmente un contenido alto en compuestos alifáticos, bajo en aromáticos y una cantidad poco significativa de compuestos con heteroátomos, el principal objetivo era mejorar la separación de los compuestos saturados, ya que la separación entre aromáticos y saturados no resulta ser problemática y se puede conseguir trabajando tanto en fase inversa como en normal [98].

**Tabla 11:** Sets de columnas estudiadas en GC×GC-TOFMS. La columna DB-1 (metilpolisiloxano, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm) se utilizó como primera columna en los cuatro sets.

Set	Columna 2D	Características
1	ZB-50 (1m×0,10mm×0,10µm)	50% difenildimetilpolisiloxano, Phenomenex, USA.
2	BPX-50 (1m×0,10mm×0,08µm)	50% fenildimetilpolisiloxano, SGE, Courtaboeuf, France.
3	IL-59 (1m×0,10mm×0,08µm)	1,12-di(tripropilfosfonium)dodecano bis(trifluorometano-sulfonil)imida, Supelco, Bellefonte, USA.
4	ZB-1701 (1m×0,10mm×0,10µm)	14%Cianopropilfenil-84%dimetilpolisiloxano, Phenomenex, USA

Para la primera dimensión se eligió una columna metilpolisiloxano por ser una fase apolar y se utilizó en los cuatro sets de columnas estudiados. Las fases estacionarias elegidas para la segunda dimensión tenían un intervalo de polaridad entre poco polar (ZB-1701), polaridad intermedia (columnas BPX-50 y ZB-50) y muy polar (IL-59). La longitud y el diámetro interno de la columna 2D, 1 m y 0,1 mm respectivamente, se mantuvieron fijos en los cuatro ensayos. Las condiciones cromatográficas indicadas en la Tabla 12 también fueron las

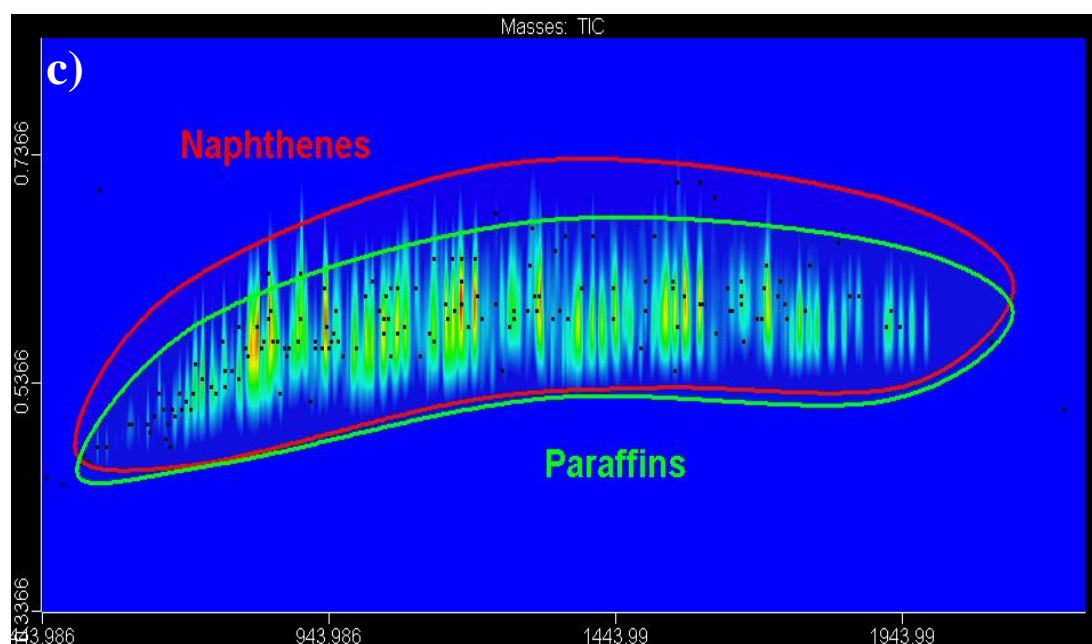
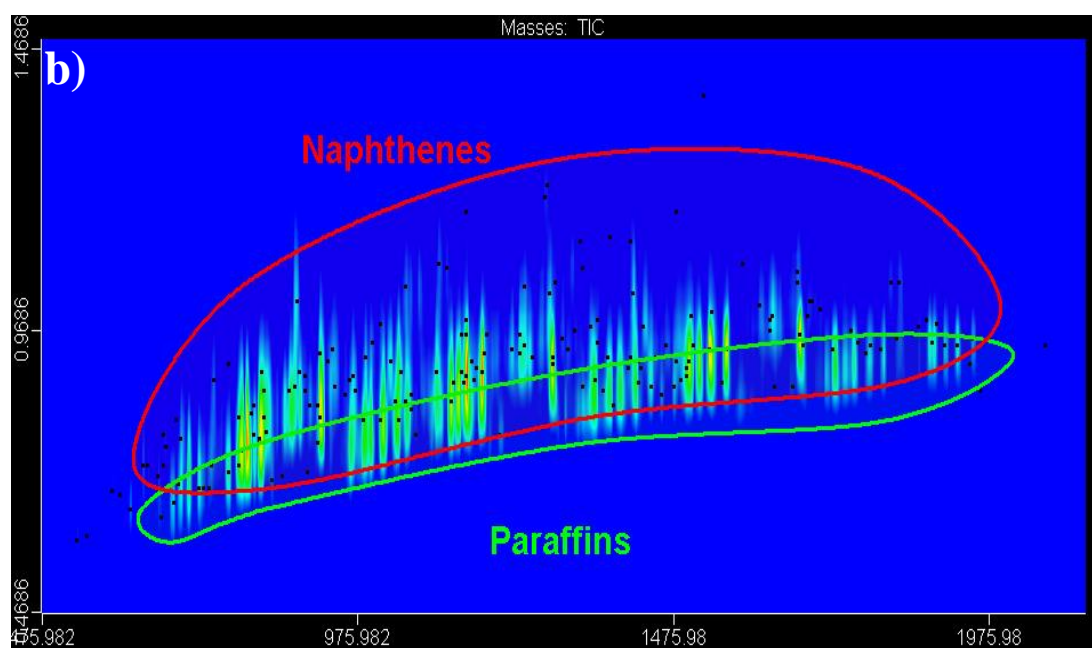
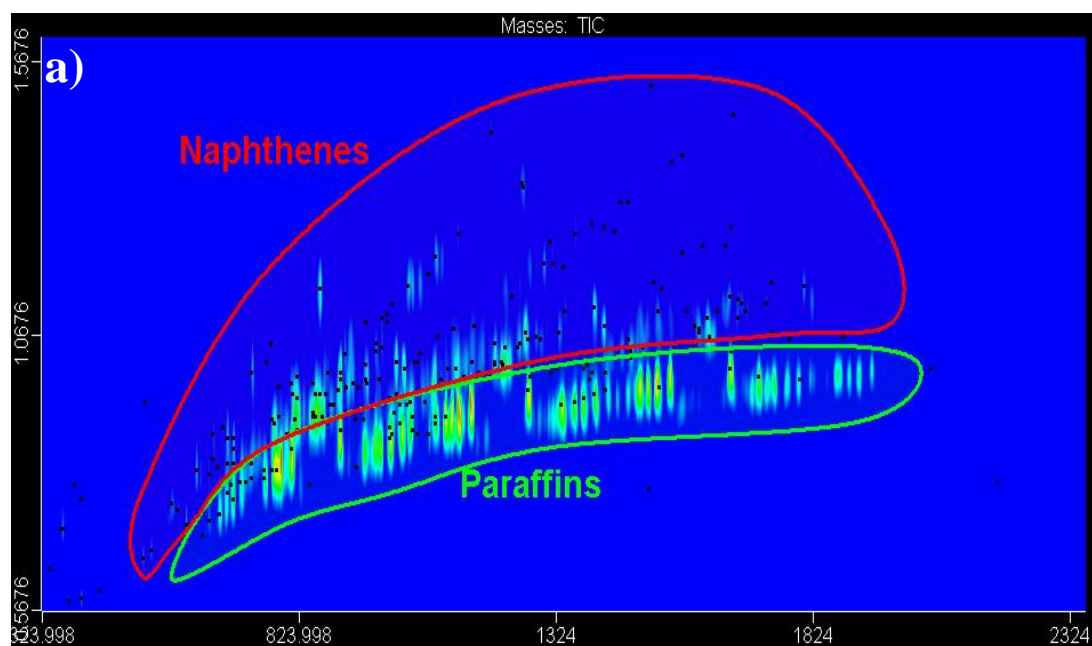
mismas en los cuatro ensayos cromatográficos con el fin de evaluar el efecto de la fase estacionaria sobre la separación de los compuestos sin alterar ningún otro factor.

Como se observa en las Figura 29c y Figura 29d, prácticamente no hay separación entre la familia de las parafinas y los naftenos con las columnas 2D ZB-1701 y IL-59, por lo que no resultaron ser idóneas para el análisis. Lo que respecta a las columnas 2D con polaridad media, ya se pudo observar una separación más clara entre dichas familias. En las Figuras 29a y 29b se puede ver que la columna ZB-50 proporcionó mejor separación de dichas familias que la columna BPX-50, ya que se observó un mayor esparcimiento de los compuestos saturados en el cromatograma 2D. Además, con la columna ZB-50, los picos presentaron menos colas, lo que permitió definir mejor la zona de elución de los naftenos y las parafinas.

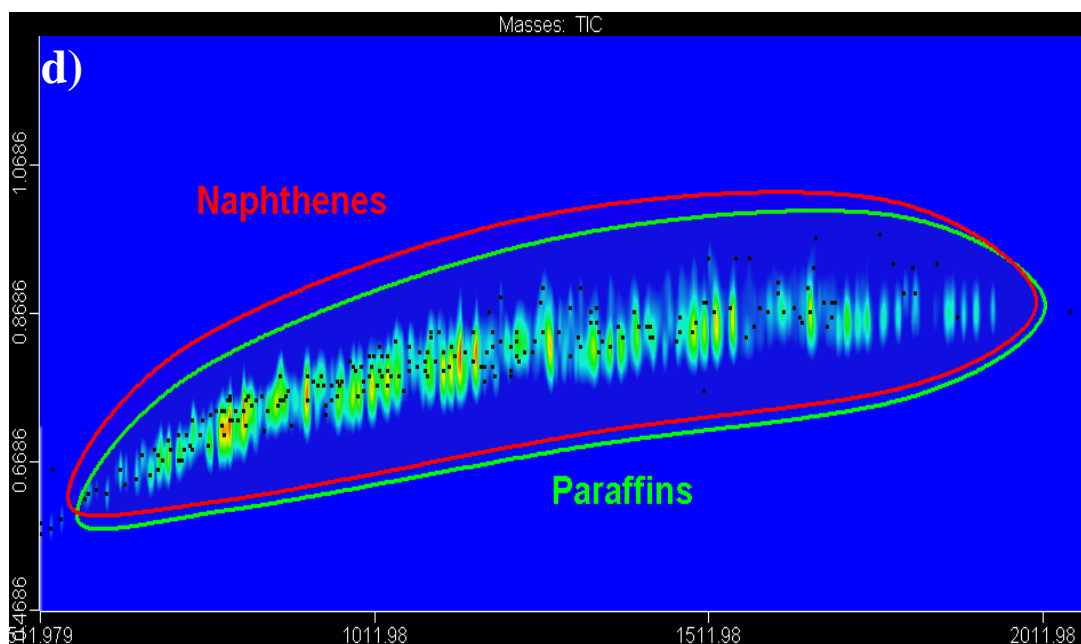
Si se tiene en cuenta el factor de la temperatura máxima de trabajo de la fase estacionaria, la de la columna BPX-50 (370 °C) es mayor que la de la ZB-50 (340 °C); sin embargo ambas temperaturas resultan ser lo suficientemente altas como para eluir todos los compuestos de un queroseno e incluso de otros destilados más pesados.

Por consiguiente, a pesar de que la columna BPX-50 es la más empleada en las distintas aplicaciones con GC×GC publicadas para muestras petroquímicas [18], teniendo en cuenta que la columna ZB-50 proporcionó mejores separaciones tanto entre los compuestos como entre las familias, se eligió el Set 1 como la combinación más idónea para este desarrollo.

Una vez elegida la fase estacionaria de la 2D, se estudiaron diferentes longitudes de columna (2 y 3 m). La columna de 2 m dio mejores resultados que la de 1 m, ya que mejoró la separación entre compuestos alifáticos. Sin embargo, no se observó mejor separación con la columna de tres metros y fue necesario incrementar el periodo de modulación para prevenir el *wrap-around*.







**Figura 29:** Ampliación de cuatro cromatogramas en color 2D en la zona de elución de los naftenos y parafinas, obtenidos al analizar una muestra de queroseno con los cuatro sets de columnas estudiados: **a)** ZB-50, **b)** BPX-50, **c)** IL-59 y **d)** ZB-1701

### 5.3.2. Optimización de condiciones cromatográficas GC×GC

La optimización de las condiciones cromatográficas consistió principalmente en la elección de la temperatura de los hornos y el periodo de modulación. Las condiciones cromatográficas optimizadas están indicadas en la Tabla 12.

Debido a que las muestras petroquímicas están formadas por miles de moléculas, a pesar de la gran separación proporcionada por el sistema GC×GC fue necesario trabajar con rampas de temperatura muy suaves, a  $2\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , para resolver mejor los compuestos según su volatilidad. Además, la diferencia de temperaturas entre el primer y el segundo horno se estableció en sólo  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , ya que una diferencia pequeña de temperaturas favorece la separación de los compuestos en la segunda dimensión. Debido a este aumento de separación fue necesario establecer un tiempo de modulación alto, 8 s, lo que permitió la elución de todos los compuestos sin presentar *wrap-around*.

Por lo que se refiere al detector de tiempo de vuelo, se estableció una frecuencia de adquisición no superior a 150 Hz. Dicha frecuencia es lo suficientemente alta para un sistema GC×GC y, aunque es posible adquirir a mayores velocidades, esto genera un mayor

volumen de datos que ralentiza considerablemente su procesamiento. Finalmente, una temperatura de 225 °C y 250 °C en la línea de transferencia y en la fuente, respectivamente, se consideraron como óptimos para el análisis de querosenos.

Por consiguiente, con las condiciones cromatográficas indicadas en la Tabla 12, se obtiene un cromatograma 2D de un queroseno como el que se muestra en la Figura 30.

**Tabla 12:** Condiciones cromatográficas optimizadas para el análisis de querosenos

GC×GC	
Columna 1D	DB-1 (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm)
Columna 2D	ZB-50 (2 m × 0,10 mm × 0,10 μm)
Inyección	0,5 μL <i>split</i> 1:70 at 250 °C
Caudal gas portador (He)	Constante: 1,5 mL·min <sup>-1</sup>
Tª primer horno	De 60 °C a 290 °C a 2 °C·min <sup>-1</sup>
Tª segundo horno	De 65 °C a 295 °C a 2 °C·min <sup>-1</sup>
Modulador	15°C por encima de la Tª del primer horno
Periodo de modulación	8s, chorro caliente 0,8 s
TOFMS	
Tª fuente	250 °C
Tª línea de transferencia	225 °C
El ionización	70 eV
Frecuencia de adquisición	150 Hz

### 5.3.3. Análisis cualitativo de muestras de queroseno.

A pesar del poder de separación del sistema GC×GC y las mejoras obtenidas con la columna ZB-50 en la separación de los compuestos saturados, no fue posible conseguir la separación total de las familias debido a la complejidad de la muestra. De hecho, seguía habiendo coelución entre los naftenos y las parafinas o entre los aromáticos y los naftenos policíclicos. Esto puede resultar muy problemático cuando se utiliza un detector no específico como es el FID, ya que al no haber distinción entre los compuestos, la cuantificación de las familias no es correcta. Por el contrario, si se trabaja con un detector como es el TOFMS, al ser un detector espectrométrico, la coelución de los compuestos no impide su correcta identificación. Para el desarrollo del método, con el fin de facilitar la identificación de los

compuestos y agilizar el análisis de las muestras se utilizaron las herramientas quimiométricas *Classification* y *Scripting* disponibles en el programa ChromaTOF (v. 4.21). En la Figura 30 se puede ver un cromatograma de color de una muestra de queroseno procesada con las herramientas *Classification* y *Scripting*. La herramienta *Classification* clasifica los compuestos de forma manual empleando mapas de contorno con o sin *scripts*, y calcula el área de los compuestos. El criterio de clasificación se realizó según el número de átomos de carbono de cada clase de compuestos y según su grupo funcional. Mediante este método se identificaron las siguientes familias:

- |                  |                   |
|------------------|-------------------|
| * n-parafinas    | * benzonaftenos   |
| * iso-parafinas  | * benzodinaftenos |
| * mononaftenos   | * naftalenos      |
| * dinaftenos     | * bifenilos       |
| * trinaftenos    | * fluorenos       |
| * alquilbencenos | * triaromáticos   |

Los compuestos fueron identificados por su espectro de masas empleando la herramienta *Scripting* que utiliza los *scripts*. En las funciones que forman los scripts están definidos los parámetros característicos de los espectros de masas de las moléculas que son identificados. Es decir, en dichas funciones están establecidos los iones característicos, las fragmentaciones, picos isotópicos, etc., de un compuestos o clase de compuesto. Esto permite, una vez identificado el analito, asignarlo a su correspondiente clase incluso si coeluye con otro.

Para el desarrollo del método se diseñaron once scripts para cada una de las familias estudiadas. A modo de ejemplo se explica a continuación el desarrollo de uno de ellos, el de n-parafinas (el resto de los *scripts* se incluyen en el Anexo 1):

Este *script* consta de tres funciones. En la función Parafinas está definido que los espectros tienen que tener el ión más abundante (Rank(1)) igual a 43 y además el ión 57 debe tener una intensidad mayor a 500 (Abundance). Lo mismo ocurre con los iones Rank(1)=57 y Abundance(43), o Rank(1)=41 y Abundance(71).

En el caso de la función Parafinas\_1 se buscan iones en el espectro que cumplan la función  $z=(86+(n*14))$  siendo  $n$  un número entre 1 y 10. Esta función equivale a la pérdida de un metileno ( $-CH_2-$ ) cuando se produce la fragmentación de una molécula con cadena alquílica.

Por último, la función Parafinas\_2 engloba las dos funciones anteriores que, en el caso de que sea cierta una de ellas, se cumple la función Parafinas\_2 y el compuesto queda identificado como n-Parafina.

#### **n-Parafinas**

##### **FUNCTION Parafinas()**

Parafinas = (Rank (1) = 43 and Abundance (57) > 500) or (Rank (1) = 57 and Abundance (43) > 500) or (Rank (1) = 43 and Abundance (71) > 400)

**END FUNCTION**

##### **FUNCTION Parafinas\_1()**

$n=1$

Do while  $n \leq 10$

$z=(86+(n*14))$

if  $z$  then Parafinas\_1=true

$n=n+1$

Loop

**END FUNCTION**

##### **FUNCTION Parafinas\_2()**

if Parafinas and Parafinas\_1 then Parafinas\_2=true

**END FUNCTION**

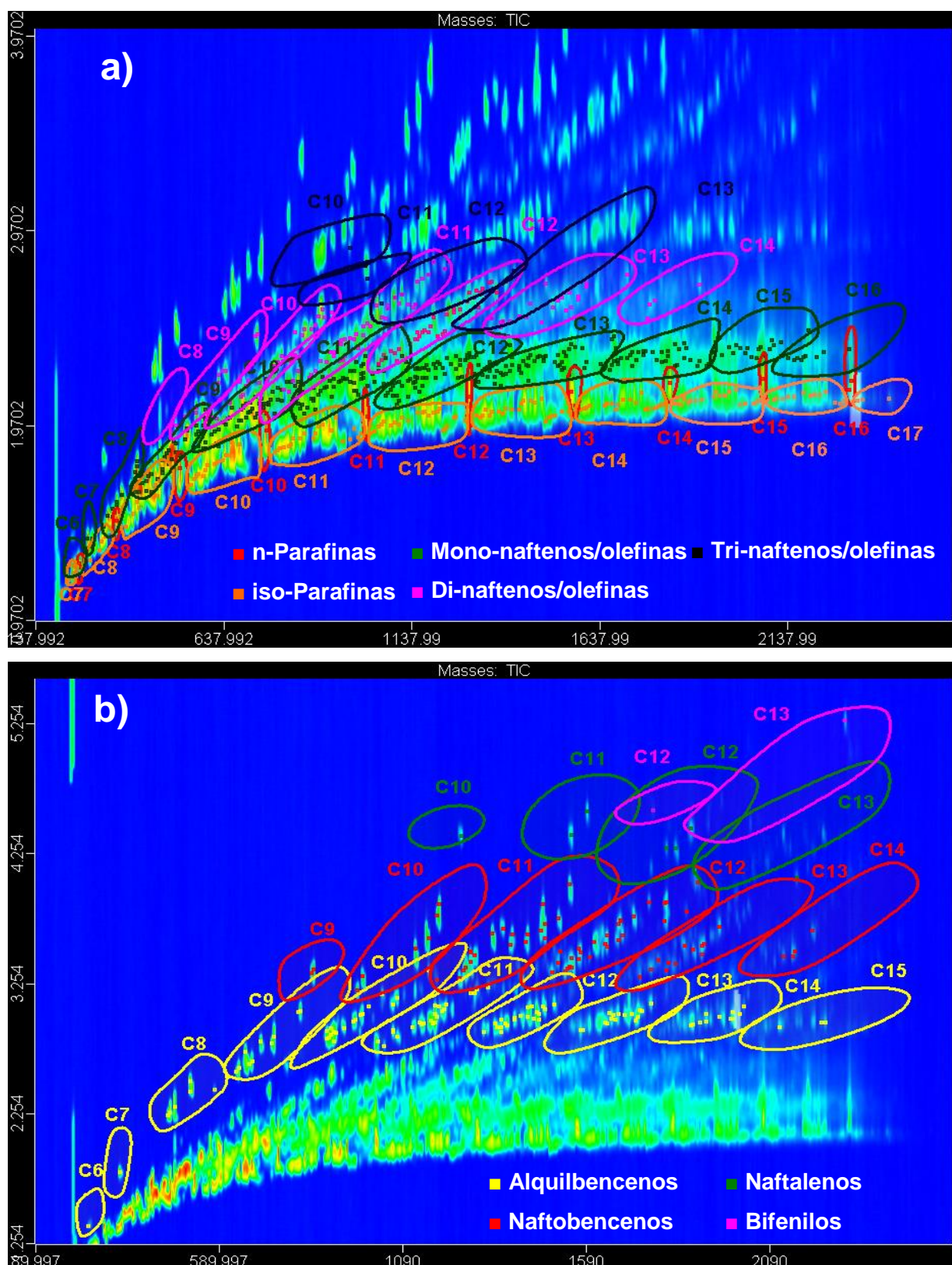
Un criterio similar al descrito en el *script* n-Parafinas se ha aplicado para el desarrollo de los demás. Su correcto funcionamiento fue validado primero analizando algunos patrones y luego algunas muestras bien definidas. Además, los compuestos así identificados fueron comprobados estudiando sus espectros de masas y mediante la librería NIST 2.0 (2008).

Se aplicaron los mismos *scripts* para la identificación de las n- e iso-parafinas, ya que presentan espectros muy parecidos, con los mismos fragmentos e iones moleculares. Sin embargo, aunque sus espectros sean muy parecidos, el ion molecular de las n-parafinas tiene bastante más intensidad que el de las iso-parafinas. Si se seleccionan los iones  $m/z$  86, 100, 114, 128, etc, que son los iones moleculares de la parafinas, las n-parafinas se localizan

fácilmente en el cromatograma, ya que aparecen picos muy intensos en la zona de las n-parafinas. Por tanto, en este desarrollo, la diferenciación entre n- e iso-parafinas se llevó a cabo principalmente mediante el ion molecular, aunque el efecto *roof-tile* (descrito en la sección 2.1) también se tuvo en cuenta.

Por lo que respecta a la coelución entre los naftenos policíclicos (di y trinaftenos) y los compuestos monoaromáticos [104], la identificación no resultó ser problemática, ya que al tener ambas familias espectros de masas diferentes se pudo implementar diferentes *scripts* para cada una de ellas.

Sin embargo, no fue posible diferenciar las olefinas de los naftenos con *scripts*, ya que, además de presentar espectros muy similares, las dos familias eluyen en la misma zona y no es posible su diferenciación. Por este motivo, el contenido de naftenos y olefinas se dio conjuntamente y de ahí, el nombre de análisis PI(ON)A. Algunos estudios recientes han acoplado otra dimensión al sistema GC×GC para poder separar los naftenos y las olefinas. D. Mao et al. [154] emplearon, para muestras petroquímicas, HPLC como primera dimensión para obtener fracciones saturadas e insaturadas que luego fueron analizadas mediante GC×GC. En cambio, F. Adam et al. [118] acoplaron la SFC al sistema GC×GC. Ambos métodos emplearon una columna de sílice modificada con plata en HPLC y SFC, respectivamente, para obtener la separación entre saturados e insaturados.



**Figura 30:** Cromatogramas 2D de color de una muestra de queroseno. Las zonas de elución de los saturados (**a**) y los aromáticos (**b**) han sido procesadas con las herramientas *Classification* y *Scripting*. Los compuestos están clasificados según la familia a la que pertenecen y el número de carbonos que contienen. El número representado en cada zona indica el número de carbonos de la cadena alquílica.

### 5.3.4. Análisis semicuantitativo de muestras de queroseno

Una vez identificados los compuestos, se realizó una semicuantificación de los mismos empleando la herramienta *Classification*. Esta herramienta calculó de forma automática el área total de los compuestos identificados mediante *scripts*, sumando las áreas de los fragmentos y de los iones moleculares de cada compuesto. Los iones empleados en la semicuantificación fueron escogidos según la fragmentación característica de cada familia de compuestos y se muestran en la Tabla 13.

**Tabla 13:** Masas de los fragmentos y los iones moleculares empleados para la semicuantificación de las distintas familias de compuestos presentes un queroseno

Familia de compuestos	Sumatorio de los iones
n-Parafinas	43+57+71+99+113+127+141+155+169
iso-Parafinas	43+57+71+99+113+127+141+155+169
Mono naftenos/olefinas	69+67+83+97+111+125+139+153+167
Di naftenos/olefinas	81+95+109+123+137+151+165+179+193
Tri naftenos/olefinas	67+79+93+107+121+135+149+163+177+191+205+219+233+247
Alquilbencenos	91+92+10+106+119+120+133+134+147+148+161+162+175+176
Benzonaftenos	103+104+117+118+131+132+145+146+159+160+173+174+187+188
Dinaftobencenos	115+116+129+130+143+144+157+158+171+172+185+186
Naftalenos	141+142+155+156+169+170+183+184+197+198+211+212+225+226+239+240
Acenaftenos, bifenilos	153+154+167+168+181+182+195+196+209+210+223+224+237+238+251+252
Acenaftilenos, fluorenos	151+152+165+166+179+180+193+194+207+208+221+222+235+236
Fenantrenos	177+178+191+192+205+206+219+220+233+234+247+248

En la Tabla 14 se muestran, a modo de ejemplo, los resultados que fueron obtenidos al caracterizar una muestra de queroseno. La caracterización en este caso se realizó por familias que componen la muestra (análisis PI(ON)A) y por el número de átomos de carbono de los compuestos.

Además, se han analizado varias muestras de queroseno con el método propuesto; los resultados se recogen en la Tabla 15. Como se puede ver, los querosenos estudiados presentan diferente contenido en las distintas familias que componen las muestras, en particular, familias como las n-parafinas y los aromáticos. Esto es debido a que dichas muestras fueron obtenidas mediante diferentes procesos de conversión que modifican las características de los querosenos.



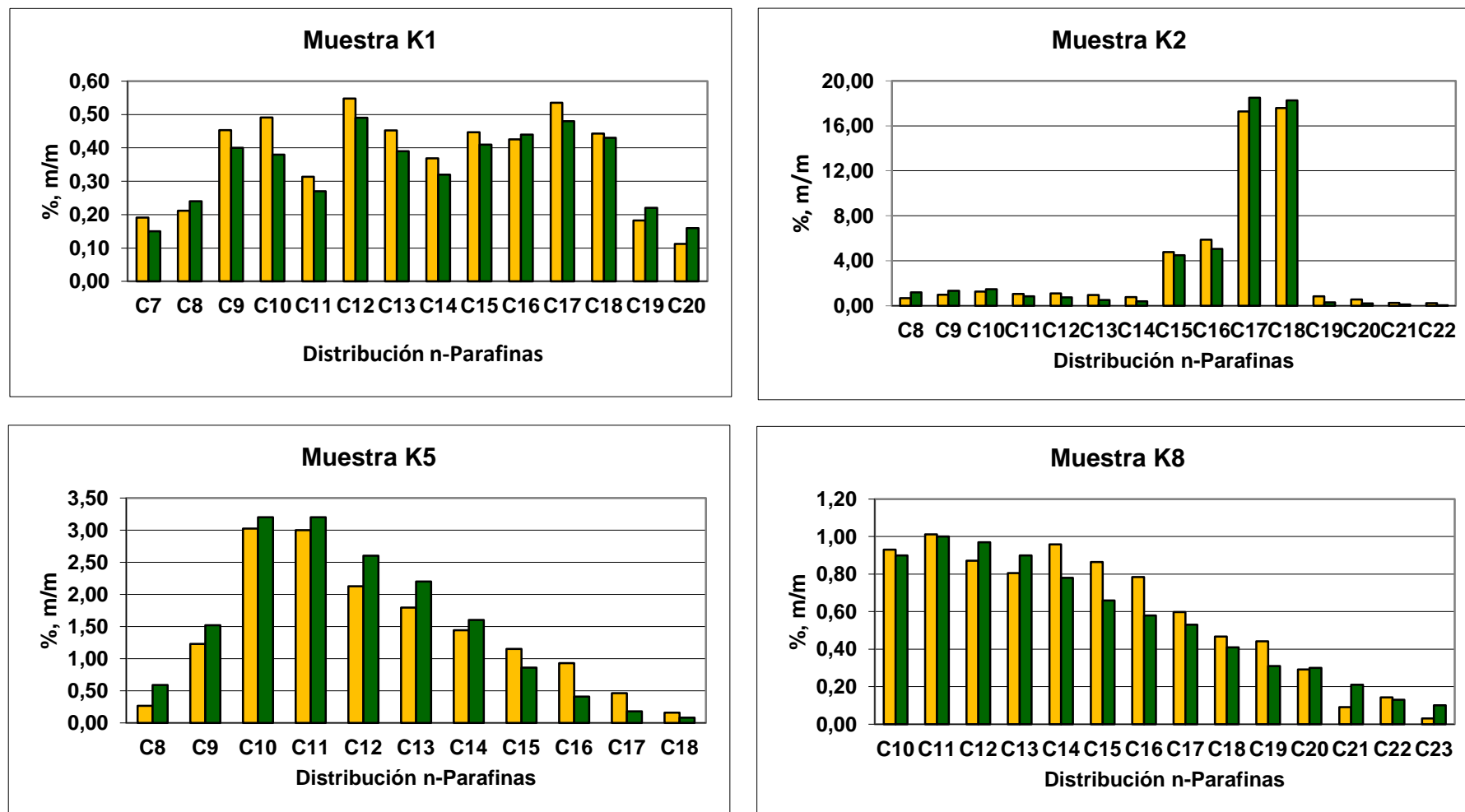
**Tabla 14:** Distribución de compuestos por familias de hidrocarburos y número de carbonos obtenidos al analizar una muestra de queroseno mediante GC×GC-TOFMS. Resultados expresados en % (m/m).

	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	Total
<b>Parafinas</b>	<b>0,00</b>	<b>0,41</b>	<b>0,58</b>	<b>2,21</b>	<b>4,79</b>	<b>6,09</b>	<b>7,52</b>	<b>5,93</b>	<b>6,03</b>	<b>6,21</b>	<b>2,16</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>41,93</b>
n-Parafinas	0,00	0,19	0,19	0,49	0,70	0,75	1,15	0,87	0,89	0,57	0,05	0,00	0,00	5,84
iso-Parafinas	0,00	0,23	0,39	1,72	4,09	5,33	6,37	5,06	5,14	5,63	2,11	0,00	0,00	36,09
<b>Naftenos/Olefinas</b>	<b>0,00</b>	<b>0,17</b>	<b>0,63</b>	<b>2,38</b>	<b>5,83</b>	<b>6,93</b>	<b>7,40</b>	<b>4,49</b>	<b>3,78</b>	<b>1,67</b>	<b>0,74</b>	<b>0,48</b>	<b>0,00</b>	<b>34,52</b>
mono-	0,00	0,17	0,63	1,96	4,66	3,77	4,07	3,09	3,61	1,55	0,74	0,15	0,00	24,41
di-			0,00	0,41	1,17	3,16	3,33	1,40	0,18	0,12	0,00	0,00	0,00	9,77
tri-					0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33	0,00	0,33
<b>Monoaromáticos</b>	<b>0,00</b>	<b>0,09</b>	<b>0,61</b>	<b>1,78</b>	<b>3,78</b>	<b>4,00</b>	<b>6,47</b>	<b>3,81</b>	<b>1,98</b>	<b>0,35</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>22,86</b>
Alquilbencenos	0,00	0,09	0,61	1,56	2,72	2,19	3,00	2,91	1,74	0,35	0,00	0,00	0,00	15,16
Benzonaftenos	0,00	0,00	0,00	0,22	1,06	1,81	3,48	0,90	0,24	0,00	0,00	0,00	0,00	7,70
Dinaftobencenos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Diaromáticos</b>					<b>0,09</b>	<b>0,25</b>	<b>0,30</b>	<b>0,06</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,70</b>
Naftalenos					0,09	0,25	0,29	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67
Bifenilos							0,01	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03
Fluorenos								0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Triaromáticos</b>									<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
<b>TOTAL</b>	<b>0,00</b>	<b>0,68</b>	<b>1,82</b>	<b>6,36</b>	<b>14,49</b>	<b>17,26</b>	<b>21,69</b>	<b>14,29</b>	<b>11,79</b>	<b>8,22</b>	<b>2,90</b>	<b>0,48</b>	<b>0,00</b>	<b>100,00</b>



**Tabla 15:** Comparación de resultados obtenidos mediante GC×GC y los métodos de referencia de ocho muestras de queroseno. Datos expresados en porcentaje m/m.

	K 1		K 2		K 3		K 4		K 5		K 6		K 7		K 8	
	GC×GC- TOFMS	Método Ref.	GC×GC- TOFMS	Método Ref.	GC×GC- TOFMS	Método Ref.	GC×GC- TOFMS	Método Ref.	GC×GC- TOFMS	Método Ref.	GC×GC- TOFMS	Método Ref.	GC×GC- TOFMS	Método Ref.	GC×GC- TOFMS	Método Ref.
<b>SATURADOS</b>	<b>76,44</b>	<b>78,12</b>	<b>94,09</b>	<b>95,95</b>	<b>78,46</b>	<b>81,14</b>	<b>84,67</b>	<b>87,31</b>	<b>83,54</b>	<b>82,67</b>	<b>96,26</b>	<b>96,60</b>	<b>72,99</b>	<b>72,07</b>	<b>88,99</b>	<b>87,95</b>
<b>Parafinas</b>	<b>41,93</b>		<b>86,28</b>		<b>59,44</b>		<b>45,92</b>		<b>50,34</b>		<b>28,04</b>		<b>41,05</b>		<b>36,76</b>	
n-Parafinas	5,84	<b>5,42</b>	54,23	<b>53,49</b>	21,83	<b>23,10</b>	5,24	<b>5,05</b>	15,94	<b>15,94</b>	3,48	<b>4,51</b>	5,38	<b>5,15</b>	7,38	<b>7,20</b>
iso-Parafinas	36,09		32,05		37,61		40,68		34,41		24,56		35,67		29,39	
<b>Naftenos/Olefinas</b>	<b>34,51</b>		<b>7,81</b>		<b>19,02</b>		<b>38,75</b>		<b>33,20</b>		<b>68,22</b>		<b>31,95</b>		<b>52,22</b>	
mono-	24,41		7,79		18,56		29,39		25,70		42,73		23,27		36,07	
di-	9,77		0,02		0,46		9,03		7,50		25,48		8,68		15,72	
tri-	0,33		0,00		0,00		0,33		0,00		0,00		0,00		0,44	
<b>AROMÁTICOS</b>	<b>23,56</b>	<b>21,88</b>	<b>5,91</b>	<b>4,05</b>	<b>21,54</b>	<b>18,86</b>	<b>15,33</b>	<b>12,69</b>	<b>16,46</b>	<b>17,33</b>	<b>3,74</b>	<b>3,40</b>	<b>27,01</b>	<b>27,93</b>	<b>11,01</b>	<b>12,05</b>
<b>Monoaromáticos</b>	<b>22,86</b>		<b>5,68</b>		<b>21,24</b>		<b>15,25</b>		<b>16,46</b>		<b>3,74</b>		<b>25,74</b>		<b>10,88</b>	
Alquilbencenos	15,16	<b>21,12</b>	4,90	<b>3,32</b>	19,77	<b>18,27</b>	11,41	<b>12,50</b>	13,22	<b>17,16</b>	2,98	<b>3,30</b>	16,47	<b>26,63</b>	8,34	<b>11,8</b>
Benzonaftenos	7,70		0,78		1,47		3,84		3,23		0,76		9,27		2,54	
Dinaftobencenos	0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00	
<b>Diaromáticos</b>	<b>0,70</b>		<b>0,23</b>		<b>0,30</b>		<b>0,08</b>		<b>0,00</b>		<b>0,00</b>		<b>1,26</b>		<b>0,13</b>	
Naftalenos	0,67	<b>0,76</b>	0,23	<b>0,73</b>	0,30	<b>0,59</b>	0,08	<b>0,19</b>	0,00	<b>0,17</b>	0,00	<b>0,10</b>	1,25	<b>1,30</b>	0,00	<b>0,25</b>
Bifenilos	0,03		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,01		0,00	
Fluorenos	0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00		0,00	
<b>Triaromáticos</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>	<b>0,00</b>
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>



**Figura 31:** Distribución de n-Parafinas expresado en % (m/m) de cuatro muestras de queroseno analizadas mediante GCxGC-TOFMS (barras verdes) y mediante GC-FID (barras amarillas).

Los resultados de n-parafinas y aromáticos de las muestras K3 y K5 son típicos de un producto de destilación. En cambio en las muestras K6 y K8 su contenido en n-parafinas y aromáticos es mucho más bajo, y alto en naftenos, lo que significa que las muestras fueron hidrocraqueadas. Además, las muestras K1, K4 y K7 también presentan pocas n-parafinas; sin embargo, como los demás valores son normales, las muestras han debido sufrir un hidrocraqueo suave, mediante el proceso llamado *mild hydrocracking*. Por último, la muestra K2 está compuesta principalmente por n- e iso-parafinas debido a que se mezcló con un aceite vegetal para incrementar el contenido en saturados.

### 5.3.5. Validación del método desarrollado: Comparación con métodos ASTM.

Debido a la gran cantidad de compuestos que se cuantifica en este desarrollo, no fue posible determinar todos los intervalos lineales o los límites de detección. Sin embargo, analizando una muestra de queroseno cinco veces fue posible calcular la precisión del método, obteniendo un valor promedio de RSD para las once familias menor del 6 %. Por consiguiente, para verificar la fiabilidad de los resultados, se cuantificaron distintas clases de compuestos presentes en las muestras de queroseno mediante métodos de referencia. El método IP 548/06 se empleó para determinar el contenido en aromáticos y la proporción entre saturados y aromáticos en los destilados medios mediante HPLC con detector de IR. El contenido en n-parafinas fue determinado mediante un método basado en uno que se reporta en el informe técnico CEN/TR 15522-2 [155], en el cual se emplea la GC-FID para la determinación de n-parafinas en productos petrolíferos. Dicho método se validó y los resultados se muestran en la Tabla 16.

**Tabla 16:** Resultados de validación del método para la determinación de n-parafinas en productos petrolíferos. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) fue obtenido al analizar una serie de patrones estándar con un contenido en n-parafinas entre 5 y 25 %. LOD y LOQ fueron obtenidos considerando 3 y 10 veces, respectivamente, la desviación estándar de la ordenada en el origen dividido por la pendiente.

Ecuación	$R^2$	RSD (%)	LOD (%)	LOQ (%)	Recuperación (%)
$y = 37557x - 69023$	0,999	1,3	1,6	4,9	90

La Tabla 15 recoge los resultados semicuantitativos de varias muestras de queroseno obtenidos mediante el método desarrollado y los de referencia. Las diferentes familias determinadas por dichos métodos se agruparon en Saturados y Aromáticos. Según se observa en la tabla, existe una buena concordancia entre resultados obtenidos por el método propuesto y los de referencia.

Por lo que se refiere al contenido total de Saturados, los valores obtenidos tienen una ligera variación entre el método propuesto y el de referencia. Esto puede ser debido a que dentro del valor de Saturados se cuantifican varias familias diferentes, por lo que está sujeto a un error mayor en la cuantificación. Sin embargo, el valor del contenido total de las n-parafinas tiene una gran semejanza con respecto a los del método de referencia.

Debido a que las olefinas y los naftenos no han podido diferenciarse, el valor que se reporta corresponde a la suma de ambas familias. Si fuera necesario conocer el contenido en olefinas de un destilado medio, se podría determinar el valor mediante el número de bromo [156] o análisis FIA [157].

Por lo que respecta al grupo de los Aromáticos, en el método desarrollado se cuantifican varias familias. La suma de todas estas familias da lugar al contenido total, el cuál coincide bastante bien con el proporcionado por el método IP 548/06.

Los compuestos diaromáticos presentan bajo contenido en la mayoría de los casos y no se han detectado compuestos triaromáticos, lo que es consistente con el tipo de muestras analizadas, ya que dichos compuestos normalmente están presentes en destilados más pesados. Hay que destacar que compuestos con azufre, nitrógeno y oxígeno también son cuantificados por el método IP 548/06, ya que eluyen dentro de la zona de los aromáticos y no hay distinción entre los compuestos, por lo que se cuantifican todos juntos. Esto puede dar lugar a valores más altos que los obtenidos por el método desarrollado, en el cual no se cuantifican los compuestos con heteroátomos. La ventaja clara que ofrece el método propuesto comparado con el de la norma IP 548/06 es que proporciona una información más detallada del tipo de compuestos aromáticos presentes en la muestra y su distribución según el número de átomos de carbono.

Una distribución similar de las familias de compuestos ofrecida por el método desarrollado, la proporciona el método ASTM 2425; sin embargo, dicho método no distingue entre n- e

iso-parafinas y además, no se obtiene una distribución de las familias según número de átomos de carbono (ver Tabla 15). Conocer la distribución de los compuestos resulta muy útil para caracterizar fracciones de petróleo y sus productos, ya que permite una rápida determinación de su intervalo de destilación, se pueden monitorizar distintos procesos y además, se puede determinar si la muestra es una mezcla de varios cortes de destilación. La distribución de n-parafinas, que se suele obtener mediante GC-FID es la más empleada debido a que normalmente son los compuestos de mayor concentración en muestras petroquímicas. Por este motivo, se compararon las distribuciones de n-parafinas obtenidas mediante el método GC×GC-TOFMS y GC-FID. En la Figura 31 se muestran las distribuciones obtenidas de cuatro muestras distintas y como se puede observar son muy parecidas por ambos métodos lo cual corrobora la fiabilidad del método desarrollado.

### 5.3.6. Estudio del fraccionamiento de destilados medios

Con el fin de poder solventar el problema de la coelución entre naftenos y olefinas se estudió el fraccionamiento mediante HPLC de muestras petroquímicas en dos grupos, compuestos saturados e insaturados. Este fraccionamiento, en caso de que fuera necesario, permitiría obtener un resultado semicuantitativo tanto de naftenos como de olefinas, por separado.

La cromatografía con iones de plata (en la fase estacionaria) se ha utilizado durante cincuenta años para la separación de lípidos insaturados [158] [159]. Esta separación se basa en la capacidad de la Ag(I) para formar complejos débiles de transferencia de carga reversibles con compuestos orgánicos insaturados [160]; cuanto mayor es el número de insaturaciones mayor es la retención de los compuestos en la columna. Existen diferentes sistemas cromatográficos que pueden contener los iones de plata: TLC, SPE, HPLC o SFC; sin embargo, los iones de plata no son estables, ya que las sales de plata son inestables en presencia de luz y de humedad. Existen sistemas comerciales en los que los iones de plata vienen incorporados, aunque muchos laboratorios preparan sus propias fases mediante la adición de nitrato de plata. En el caso de HPLC, la mayoría de los soportes son de base de sílica gel debido a su carácter polar y poder de adsorción. Según Mao et al. [154], columnas de sílice para HPLC modificadas con plata han dado buenos resultados para el fraccionamiento de muestras petroquímicas. Sin embargo, la vida útil de estas columnas se

acorta por la elución de los iones de plata favorecida por fases móviles polares [160]. Además, la elución de  $\text{AgNO}_3$  puede contaminar las fracciones recolectadas y, por su carácter corrosivo, puede dañar el detector; por consiguiente, son necesarios enlaces más fuertes entre los iones y la fase estacionaria. Se ha demostrado que las columnas con fase de intercambio catiónico con iones de plata son más estables durante largos períodos de tiempo y, además, no se ha detectado sangrado de los iones de plata [161].

#### 5.3.6.1. Acondicionamiento de la columna HPLC

Para el fraccionamiento de los destilados medios en compuestos saturados e insaturados, en este trabajo se utilizó una columna de intercambio catiónico fuerte (SCX), concretamente la columna Nucleosil 100-5SA con fase estacionaria de ácido sulfónico aromático (250 mm  $\times$  4,5 mm  $\times$  5  $\mu\text{m}$ ). Su modificación con iones de plata se realizó en el laboratorio pasando una solución de  $\text{AgNO}_3$  en  $\text{H}_2\text{O}$  (0,2 g $\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Para ello se utilizó un inyector manual Rheodyne de seis vías con un *loop* de 100  $\mu\text{L}$  para evitar el paso del nitrato de plata por todo el sistema de HPLC. La bomba se conectó al inyector y éste se conectó a la columna. La salida de la columna se conectó directamente al desecho.

Inicialmente la columna se acondicionó con una solución de acetato amónico al 1 % durante una hora a un flujo de 0,5 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ . A continuación, se pasó agua a un flujo de 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$  durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo, mediante el inyector manual, se fueron inyectando cada minuto 50  $\mu\text{L}$  de una disolución de nitrato de plata en agua (0,2 g $\cdot\text{mL}^{-1}$ ) hasta inyectar un total de 1 mL de disolución. Después de la última inyección se dejó pasar agua durante 20 minutos a 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$ . Por último, se lavó la columna a un flujo de 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$  primero con MeOH, luego con DCM y al final con n-hexano (durante una hora cada disolvente). En total se emplearon unas cuatro horas para el proceso.

#### 5.3.6.2. Desarrollo experimental

El equipo de HPLC en el que se hicieron las pruebas constaba de un detector de índice de refracción (IR) y un detector ultravioleta-visible (UV-Vis). Con el detector IR no se puede trabajar con gradiente, pero es capaz de detectar compuestos no cromóforos, como es el caso de los compuestos saturados, mientras que con el UV-Vis se puede trabajar con gradiente, pero no se detectan compuestos no cromóforos. Por tanto, se cambió la

configuración del equipo según la prueba que se realizaba durante el desarrollo del método cromatográfico. Con el detector IR se monitorizó la elución de los saturados, mientras que el detector UV-Vis se utilizó para definir el gradiente de la fase móvil adecuado, para eluir los compuestos insaturados.

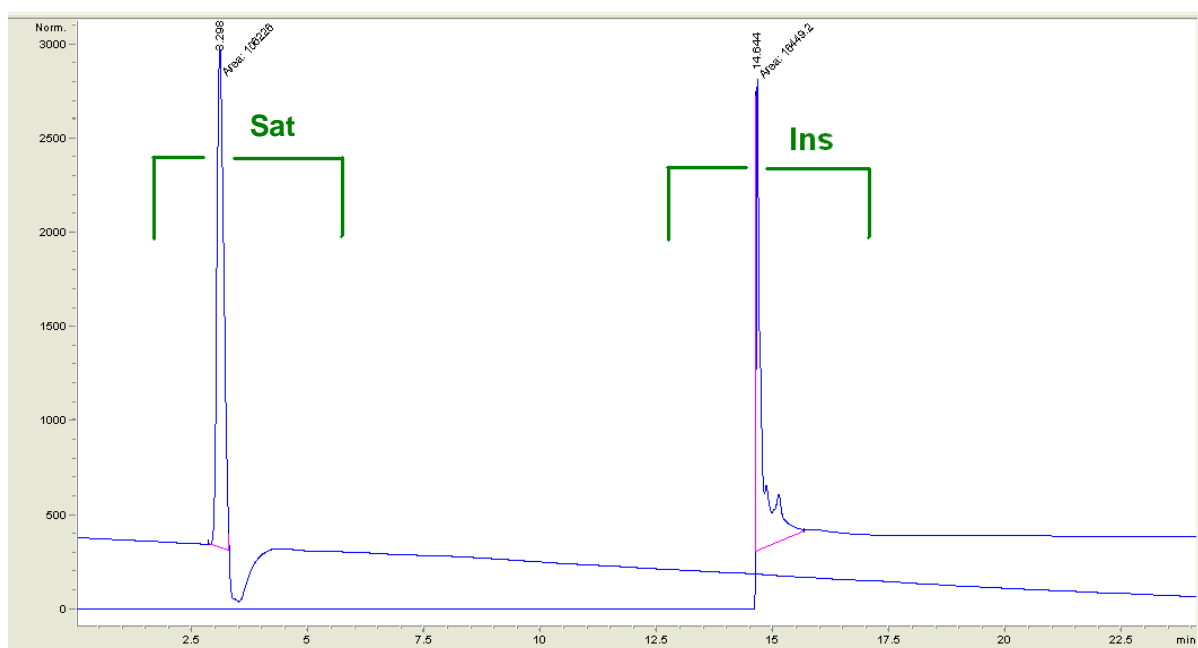
Para el desarrollo del método se empleó una muestra real de gasóleo disuelta en n-hexano. Se utilizó el gasóleo en vez del queroseno debido a que el primero presenta mayor contenido de aromáticos en la muestra que el segundo.

La elución de los compuestos saturados se logró con un disolvente apolar, mientras que los compuestos insaturados eluyeron con un disolvente polar. Se empezó trabajando con la combinación n-hexano/THF. Se eligió el disolvente THF por su carácter polar, por ser miscible con el n-hexano, por ser volátil y por no absorber en UV-Vis. Se optimizó el programa cromatográfico (Tabla 17) según la elución de los compuestos.

**Tabla 17:** Condiciones cromatográficas del sistema HPLC-IR y HPLC-UV-Vis con fase móvil n-hexano/THF

Tiempo (min)	% Hexano	% THF	Flujo (ml/min)
0.00	100	0	1
10.00	100	0	1
10.01	0	100	1
20.00	0	100	1
20.01	100	0	1
25.00	100	0	1

En la Figura 32 se muestra la superposición de dos cromatogramas obtenidos mediante los detectores IR y UV-Vis en los que se puede observar la elución de los compuestos saturados e insaturados al inyectar 10  $\mu$ L de una disolución de 100 mg de gasóleo en 10 mL de n-hexano. Los compuestos saturados eluyen en el minuto 3,3 con el paso de n-hexano, mientras que los insaturados eluyen en el minuto 14,6. Con esto se demuestra la eficacia de los iones de plata, ya que se ha producido una buena separación entre los dos tipos de compuestos.

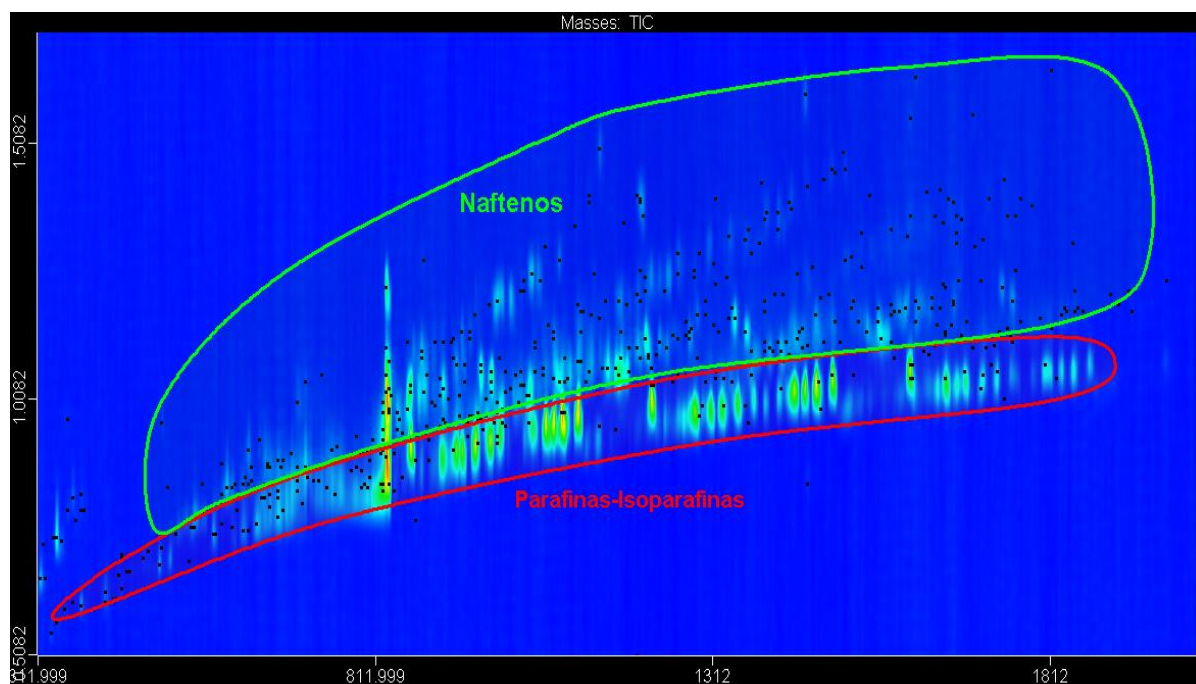


**Figura 32:** Superposición de dos cromatogramas obtenidos mediante el detector IR y el detector UV-Vis de una disolución de gasóleo en n-hexano con fase móvil n-hexano/THF. Con el detector IR se registró la elución de los compuestos saturados (Sat) y el con el detector UV-Vis la elución de los insaturados (Ins).

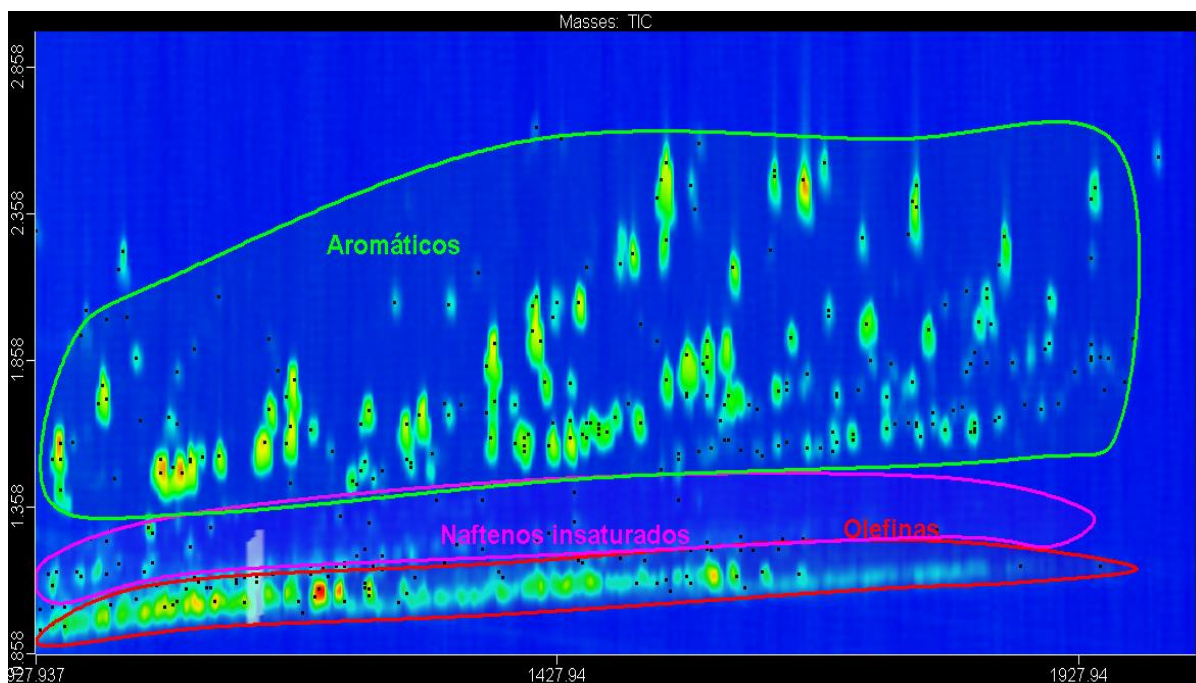
A continuación, con el fin de analizar y confirmar el contenido de los dos picos obtenidos (Figura 32), se inyectaron cinco veces 50  $\mu\text{L}$  de la disolución del gasóleo preparada anteriormente y se recogió la fracción saturada, entre el minuto 2,5 y el 5,5; y la fracción insaturada, entre el minuto 14,0 y el 18,0. Por último, cada fracción se preconcentró hasta un volumen de 1 mL bajo corriente de nitrógeno y se inyectó en el GC $\times$ GC-TOFMS según las condiciones cromatográficas descritas en la Tabla 12.

En las Figuras 33 y 34 se muestran los cromatogramas 2D obtenidos de las fracciones saturado e insaturado respectivamente, mediante GC $\times$ GC-TOFMS; mientras que en la Figura 35 se presenta la superposición de los dos cromatogramas 2D. En la fracción saturada sólo se detectaron las familias de parafinas y la de naftenos saturados; en cambio en la fracción insaturada sólo aparecen los compuestos aromáticos, naftenos insaturados y olefinas, lo que demuestra que el fraccionamiento se produjo correctamente. Por consiguiente, mediante este tipo de fraccionamiento se podría reportar un valor por separado para los naftenos y las olefinas presentes en la muestra, así como para el resto de las familias estudiadas en este método.

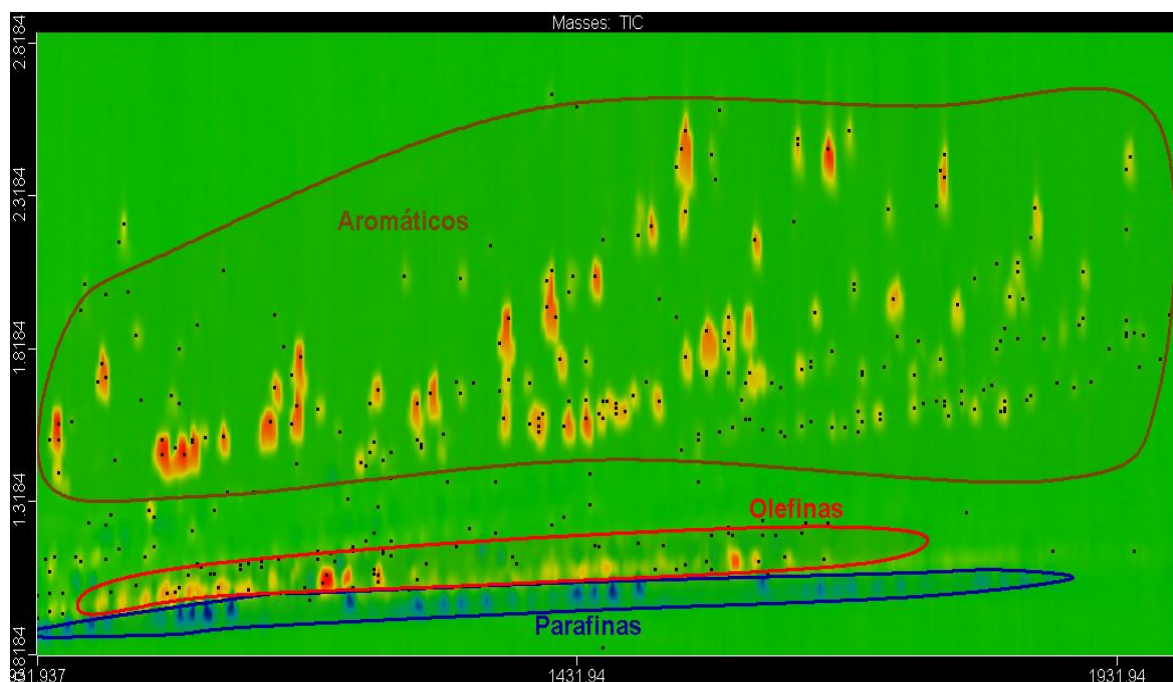




**Figura 33:** Ampliación en el cromatograma 2D obtenido mediante GCxGC-TOFMS de la zona de elución de los compuestos de la fracción saturada de la muestra gasóleo



**Figura 34:** Ampliación en el cromatograma 2D obtenido mediante GCxGC-TOFMS de la zona de elución de los compuestos de la fracción insaturada de la muestra gasóleo



**Figura 35:** Superposición de los cromatogramas de las fracciones saturada e insaturada. Color naranja-rojo: fracción insaturada. Color azul: fracción saturada.

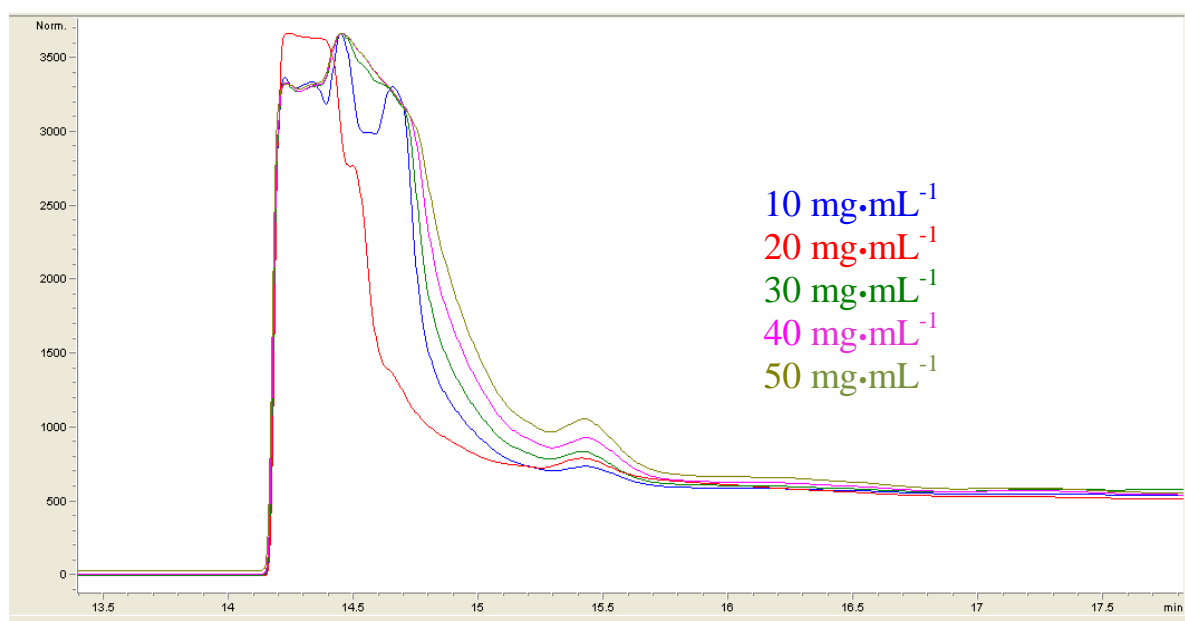
#### 5.3.6.3. Optimización del método

- **Saturación de la columna**

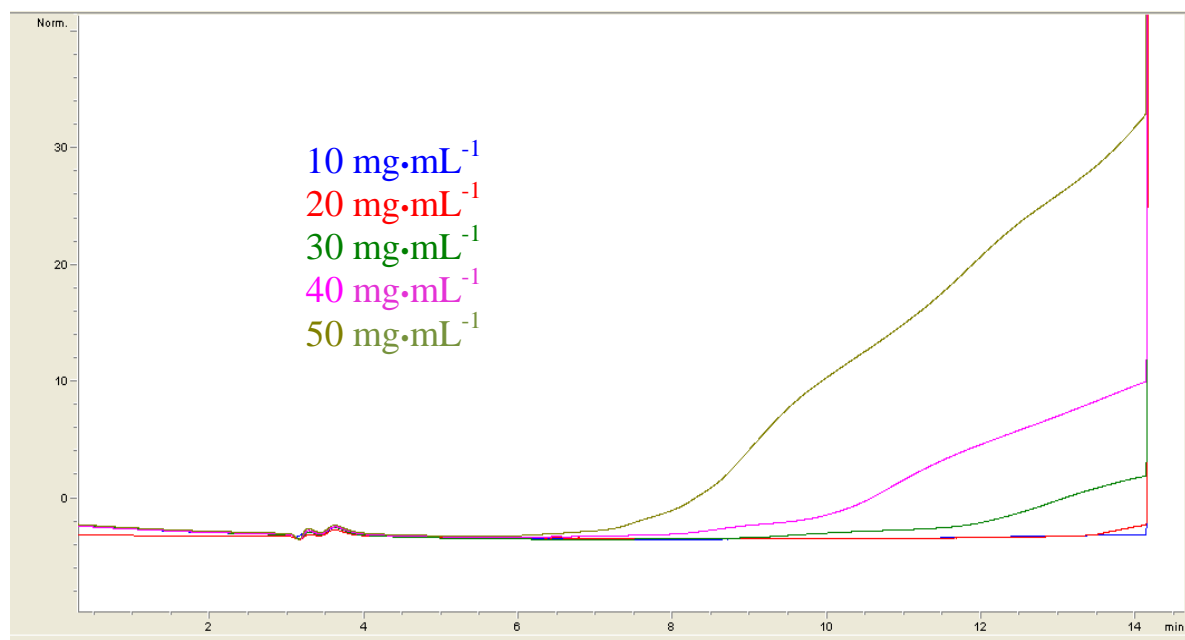
Una vez verificado el fraccionamiento de los compuestos, se realizó el estudio de la saturación de la columna HPLC. Debido al número limitado de iones de plata que contiene la fase estacionaria y a que los compuestos insaturados interaccionan con dichos iones, es frecuente que estas columnas se saturen cuando haya una cantidad elevada de compuestos insaturados dando lugar a una separación ineficiente. Por este motivo, se estudió la capacidad de la columna modificada SCX-Ag. Este estudio se realizó empleando la fase móvil n-hexano/THF e inyectando diferentes concentraciones de gasóleo en n-hexano. Si la columna se saturase, se observarían picos en la zona de elución del n-hexano o un aumento de la línea base en la misma zona.

Según los cromatogramas de las Figuras 36 y 37, se observa como empieza a crecer la línea base al aumentar la concentración de gasóleo en disolución, ya que los compuestos empiezan a eluir antes de tiempo. Se determina entonces que a concentraciones mayores de  $10 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  de gasóleo en n-hexano se produce saturación de la columna cromatográfica modificada con plata. Sabiendo que el contenido de los saturados en esta muestra es de un

30 % m/m, esto supone que la columna es capaz de separar correctamente unos  $7 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  de compuestos insaturados en la muestra.



**Figura 36:** Ampliación de la zona de elución de los compuestos insaturados de cinco cromatogramas superpuestos obtenidos al analizar diferentes concentraciones de gasóleo en n-hexano mediante HPLC-IR con la fase móvil n-hexano/THF.



**Figura 37:** Ampliación de la línea base justo antes de la elución de los compuestos insaturados de cinco cromatogramas superpuestos obtenidos al analizar diferentes concentraciones de gasóleo en n-hexano mediante HPLC-IR con la fase móvil n-hexano/THF.

- **Fase móvil**

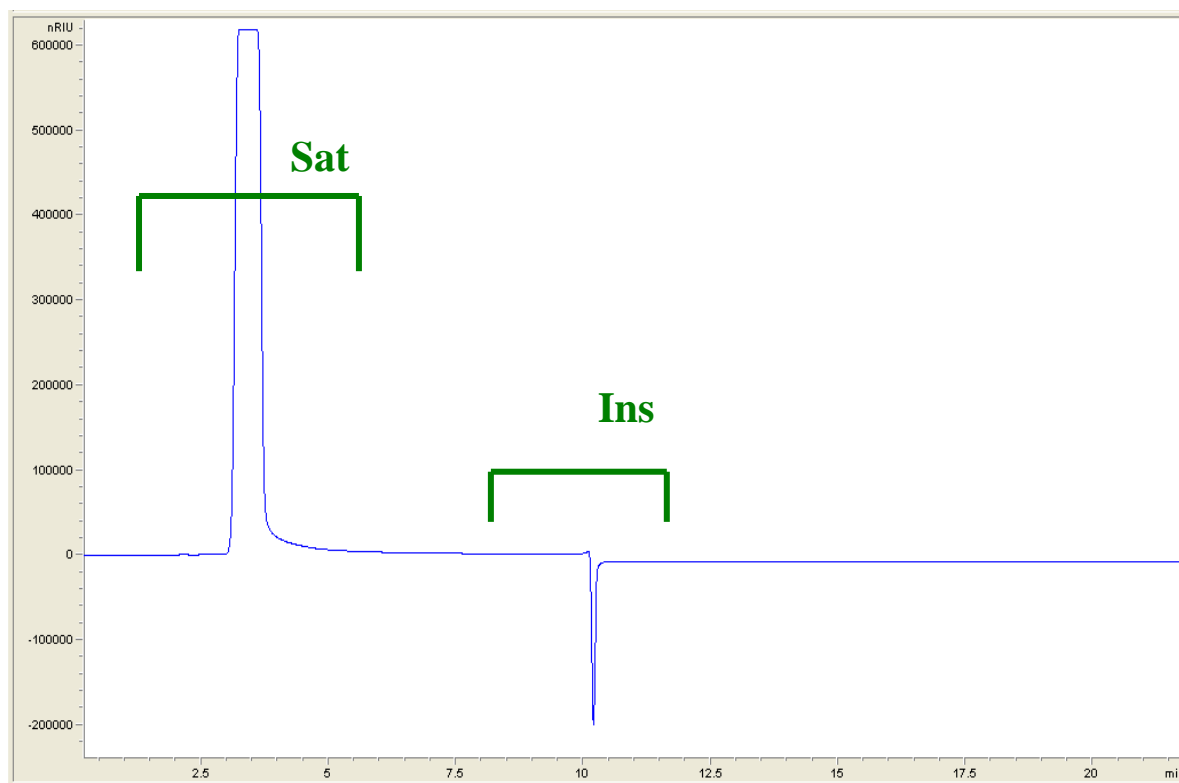
Debido al empleo de THF como disolvente polar, en el cromatograma 2D de GC×GC aparecieron varias manchas correspondientes al mismo que enmascaraban algunos compuestos, por lo que se decidió cambiarlo por acetona. La acetona es más polar que el THF, miscible con el n-hexano y volátil, pero absorbe en UV-Vis. Sin embargo, el cambio de gradiente con acetona no afecta a la línea base de un detector IR y sólo se observa un cambio de señal cuando los compuestos insaturados pasan por el detector. Esto puede ser debido a que los índices de refracción del n-hexano y la acetona son muy parecidos, 1,359 y 1,375 respectivamente.

Con el fin de acortar el tiempo de análisis se modificaron las condiciones cromatográficas de la Tabla 17, adelantando el cambio de la fase móvil al minuto 6,01 en vez de 10,01; las nuevas condiciones se muestran en la Tabla 18.

**Tabla 18:** Condiciones cromatográficas del sistema HPLC-IR con fase móvil n-hexano/acetona.

Tiempo (min)	% Hexano	% Acetona	Flujo (mL/min)
0.00	100	0	1
6.00	100	0	1
6.01	0	100	1
15.00	0	100	1
15.01	100	0	1
20.00	100	0	1

La Figura 38 muestra el cromatograma obtenido mediante HPLC-IR de una disolución de gasóleo en n-hexano. Se puede observar un pico en el minuto 3,3 que corresponde a la elución de los compuestos saturados y una supresión de la señal en el minuto 10,2 que corresponde al paso de los compuestos insaturados por el detector. En el cromatograma obtenido con el disolvente THF (Figura 32), se observa que los compuestos insaturados eluyen 4,6 minutos después de producirse el cambio de la fase móvil; sin embargo, en el caso de la acetona, la supresión de la señal se produce 4,2 minutos más tarde. Esto es debido a que la acetona, al ser más polar que el THF, eluye antes los compuestos insaturados.



**Figura 38:** Cromatograma de una disolución de gasóleo en n-hexano obtenido mediante HPLC-IR con la fase móvil n-hexano/acetona. Se muestra la elución de los compuestos saturados (Sat) e insaturados (Ins).

De acuerdo a los nuevos tiempos de elución de los compuestos, los tiempos de recogida de fracciones fueron: entre el minuto 2,5 y el 5,5 para los compuestos saturados y entre el minuto 9,5 y el 12,5 para los insaturados.

## 5.4. CONCLUSIONES

El método desarrollado mediante el sistema GC×GC-TOFMS permitió una identificación detallada y un análisis semicuantitativo de los compuestos que contienen las muestras de queroseno. Se consiguió una identificación más exacta de los componentes con respecto al sistema GC×GC-FID debido a que la identificación no se basó sólo en los tiempos de retención, sino que también se realizó según los espectros de masas de los compuestos. Además, las herramientas de *Classification* y *Scripting* ayudaron a realizar la identificación y clasificación de forma automática de los miles de compuestos que componen las muestras petroquímicas obteniendo de forma rápida resultados más exactos. Gracias a estas herramientas fue posible distinguir familias que coeluyen entre sí en el cromatograma como

son los naftenos y los aromáticos. Además, fue posible obtener un análisis más detallado de las distintas familias de aromáticos, ya que se cuantificaron los alquilbencenos, benzonaftenos, dinaftobencenos, bifenilos o naftalenos. Esto demuestra la gran utilidad que proporcionan las herramientas como *Scripting* cuando se trabaja con muestras muy complejas.

Los resultados semicuantitativos obtenidos mediante un detector espectrométrico como es el TOFMS fueron comparados con los obtenidos mediante métodos de referencia y se apreció una gran similitud entre ellos. Por consiguiente, el método propuesto por GC×GC-TOFMS podría ser una buena alternativa para conseguir un análisis PI(ON)A de querosenos, lo que resulta muy útil en la industria petroquímica. Además, cabe la posibilidad de implementar este método a destilados medios más pesados.

El fraccionamiento de los compuestos saturados e insaturados logrado mediante el sistema HPLC, demostró que sería posible obtener un análisis aún más detallado de las muestras petroquímicas, ya que, además de los datos de las n-parafinas, iso-parafinas, monoaromáticos, diaromáticos y triaromáticos, se consigue también por separado el dato de los naftenos y las olefinas en las muestras. Sin embargo, debido a que este fraccionamiento supone un aumento de tiempo de análisis considerable, no se aplicó de forma rutinaria, sino cuando fue necesario obtener dicha información.



# 6

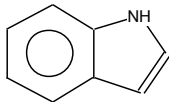
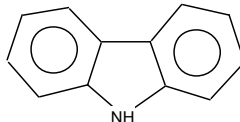
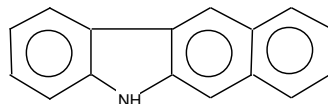
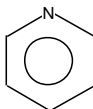
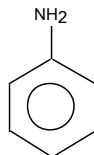
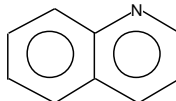
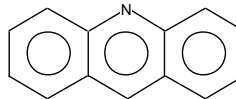
## **CAPITULO 6. Especiación de compuestos nitrogenados en destilados medios**

### **6.1. INTRODUCCIÓN**

La mayor parte del nitrógeno que se encuentra en el petróleo está en forma orgánica y, principalmente, en compuestos aromáticos con múltiples anillos. Dichos compuestos nitrogenados se han clasificado en dos grupos: neutros y básicos (ver Figura 39). Los compuestos nitrogenados básicos son, principalmente, piridinas, anilinas, quinolinas y acridinas, mientras que las especies neutras son indoles, carbazoles y benzocarbazoles. Los compuestos nitrogenados que se encuentran en el crudo afectan negativamente a muchos procesos importantes en la industria del petróleo como son el hidrocrqueo y el hidrotratamiento. De hecho, debido a su polaridad y basicidad, estos compuestos pueden envenenar los catalizadores empleados en el procesos de hidrocrqueo, craqueo y reformado catalítico al interaccionar con los sitios ácidos del catalizador. Además, aunque dichos compuestos estén en baja concentración pueden afectar a la estabilidad de los productos de destilación [162] [163].

Por otro lado, y por lo que respecta a la salud y al medio ambiente, los compuestos nitrogenados son carcinogénicos, mutagénicos [164] y precursores del óxido de nitrógeno que da lugar a la lluvia ácida [165].



Neutros			
<p>Indol</p> 	<p>Carbazol</p> 	<p>Benzocarbazol</p> 	
Básicos			
<p>Piridina</p> 	<p>Anilina</p> 	<p>Quinolina</p> 	<p>Acridina</p> 

**Figura 39:** Estructura molecular de los principales compuestos nitrogenados presentes en crudos

La situación económica actual y las reservas de crudo mundiales han aumentado la necesidad de tener que procesar crudos pesados que contienen mayor cantidad de nitrógeno. Por tanto, resulta necesario conocer en detalle la concentración y el tipo de compuestos nitrogenados presentes en los crudos para poder optimizar los procesos de eliminación de nitrógeno de los diferentes destilados. Cabe destacar que el nitrógeno presenta baja reactividad en procesos de desnitrogenación, lo que dificulta mucho su eliminación; por el contrario, los compuestos nitrogenados presentan una reactividad alta para inhibir los procesos de hidrodesulfurización [166] [167], procesos que resultan de gran importancia en la industria petroquímica.

La cromatografía de gases acoplada a detectores específicos ha sido ampliamente empleada para la determinación de compuestos con heteroátomos. Detectores como los de emisión atómica (AED) [168] o espectrometría de masa (MS) [151] [169] se han utilizado para determinar compuestos con átomos de oxígeno, azufre, etc, ya que resultan lo suficientemente sensibles para detectar bajas concentraciones de dichos compuestos en muestras complejas. Sin embargo, teniendo en cuenta la alta sensibilidad y especificidad, el detector NCD y el detector de nitrógeno fósforo (NPD) son los que más se utilizan para la

especiación de nitrógeno en destilados medios [127]. Como se ha mencionado en la sección 2.1.3.3, la gran ventaja que ofrece el detector NCD con respecto a los detectores AED, MS y NPD es que la respuesta de los compuestos de nitrógeno es equimolar [170] [171], por lo que la cuantificación simultánea de diferentes compuestos nitrogenados resulta ser mucho más sencilla. Esto es ventajoso en el análisis de muestras petroquímicas, ya que presentan una gran variedad de compuestos nitrogenados.

Se ha demostrado en trabajos recientes sobre la caracterización de compuestos nitrogenados en destilados medios las ventajas de la técnica GC×GC frente a la cromatografía de gases convencional [64] [170]. Debido a su mayor poder de separación, la técnica GC×GC reduce el solapamiento de los compuestos nitrogenados presentes en los destilados medios y, por tanto, se consigue una mejor identificación y cuantificación de dichos compuestos. Sin embargo, a pesar de la gran resolución que presenta la técnica GC×GC, cuando se trabaja con muestras complejas con un alto contenido en nitrógeno, las piridinas, anilinas quinolinas y acridinas llegan a coeluir en el cromatograma impidiendo su correcta cuantificación. Por tanto, sigue siendo necesario un fraccionamiento previo de las muestras de tal forma que las distintas familias de nitrogenados no se solapen en el cromatograma.

En el trabajo que se describe a continuación, se utilizó la técnica GC×GC-NCD para desarrollar un método sencillo y fiable para la especiación y cuantificación de las principales familias de compuestos nitrogenados en destilados medios. En el método propuesto se utiliza la técnica SPE para la extracción de los compuestos nitrogenados de la matriz y para la separación de familias nitrogenadas que coeluyen en el sistema GC×GC. Durante el proceso se obtuvieron dos fracciones, una de ellas estaba compuesta por anilinas, indoles y carbazoles, mientras que la otra contenía piridinas, quinolinas y acridinas.

## **6.2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **6.2.1. Patrones**

Para el desarrollo del método se trabajó con 13 compuestos nitrogenados adquiridos en Sigma Aldrich y Acros, ver Tabla 19.

**Tabla 19:** Composición de la disolución multipatrón preparada para la optimización del método analítico.

Especie	Compuesto	Concentración de N (ppm)
Neutra	Carbazol	1,12
	Indol	4,74
	2-Metilindol	1,74
Básica	Anilina	1,53
	2-Etilanilina	1,64
	4-Etilanilina	1,37
	Acridina	1,62
	9-Metilacridina	0,90
	Quinolina	2,11
	Isoquinolina	2,01
	2,6-Dimetilquinolina	1,20
	2-Etilpiridina	1,75
	4-Etilpiridina	3,31

### 6.2.2. Preparación de patrones

Se preparó una disolución estándar multipatrón disolviendo los 13 compuestos de nitrógeno (ver Tabla 19) en aceite de ciclo ligero (en inglés LCO) libre de compuestos nitrogenados cubriendo un intervalo de concentración desde 1 a 4,7 ppm de nitrógeno. Se utilizó LCO como disolvente para reproducir la matriz de las muestras.

Para obtener LCO libre de compuestos de nitrógeno, se hizo pasar LCO por una columna abierta rellena de sílice activada. Se utilizó n-hexano para eluir de la columna los compuestos saturados, insaturados y aromáticos, mientras que los compuestos polares (incluyendo los nitrogenados) quedaron retenidos en la cabeza de columna. Las fracciones recolectadas de n-hexano se concentraron en el rotavapor al eliminar el disolvente hasta pesada constante. El residuo recogido correspondió a LCO libre de nitrógeno.

### 6.2.3. Muestras

Las muestras de destilados medios con diferente contenido en nitrógeno fueron recolectadas de diversas refinerías de Repsol S.A. La diferencia de composición y contenido en nitrógeno orgánico fue debido a que las muestras sufrieron diferentes procesos de transformación.

### 6.2.4. Preparación de muestras

Se llevó a cabo un fraccionamiento de las muestras mediante cartuchos de SPE con 0,5 g de sílice (J.T.Baker). Los cartuchos utilizados fueron desechados después de cada análisis. El método de extracción consistió en introducir 1 mL de muestra en el cartucho previamente acondicionado con n-hexano. A continuación, se pasaron 9 mL de n-hexano para eluir los compuestos saturados y aromáticos, mientras que los compuestos nitrogenados quedaron retenidos en la parte superior del cartucho. La fracción de n-hexano fue desechada. Para el fraccionamiento de las familias, primero se pasaron 9 mL de DCM para eluir las anilinas, indoles y carbazoles, y a continuación se añadió 6 mL de acetona para extraer las piridinas, quinolinas y acridinas del cartucho. Las dos fracciones obtenidas se evaporaron bajo una corriente de nitrógeno hasta un volumen de 1 mL en recipientes de plástico o vidrio silanizado para evitar la adsorción de los compuestos nitrogenados a los sitios activos.

### 6.2.5. Contenido total de nitrógeno

El contenido total de nitrógeno fue determinado según la norma ASTM-4629 [172]. En el experimento se utilizó un Analizador Total de Nitrógeno TN3000 (Thermo Electron Corporation).

### 6.2.6. Sistema cromatográfico

En el experimento se empleó una columna apolar en la primera dimensión (DB-1, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) y una columna de polaridad media en la segunda (BPX-50, 1 m × 0,10 mm × 0,10 µm, Supelco, PA, USA). Los detectores empleados en este experimento fueron el NCD y el TOFMS.

Tanto las condiciones cromatográficas de GC×GC-NCD como de GC×GC-TOFMS fueron optimizadas y están recogidas en la Tabla 20.

**Tabla 20:** Condiciones cromatográficas optimizadas para los sistemas GC×GC-NCD y GC×GC-TOFMS

	GC×GC-NCD	GC×GC-TOFMS
1D Columna	DB-1 (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm)	
2D Columna	BPX-50 (1 m × 0,10 mm × 0,10 μm)	
Inyección	1 μL split 1:10	1 μL <i>splitless</i>
Tª inyector	300 °C	
Flujo gas portador	Flujo constante: 1,5 mL·min <sup>-1</sup> He	
Tª Horno principal	De 60 °C a 290 °C a 2 °C·min <sup>-1</sup>	
Tª Horno secundario	De 65 °C a 295 °C a 2 °C·min <sup>-1</sup>	
Tª Modulador	30 °C por encima del horno principal	
Periodo de modulación	10 s, chorro caliente 0,8 s	
NCD		
Tª de transferencia	200 °C	
Tª quemador	900 °C	
Flujo oxígeno	9 sccm	
Flujo hidrógeno	4 sccm	
Presión Plasma Dual	100 Torr	
TOFMS		
Tª fuente	250 °C	
Tª línea transferencia	225 °C	
El ionización	70 eV	
Frecuencia adquisición	150 Hz	

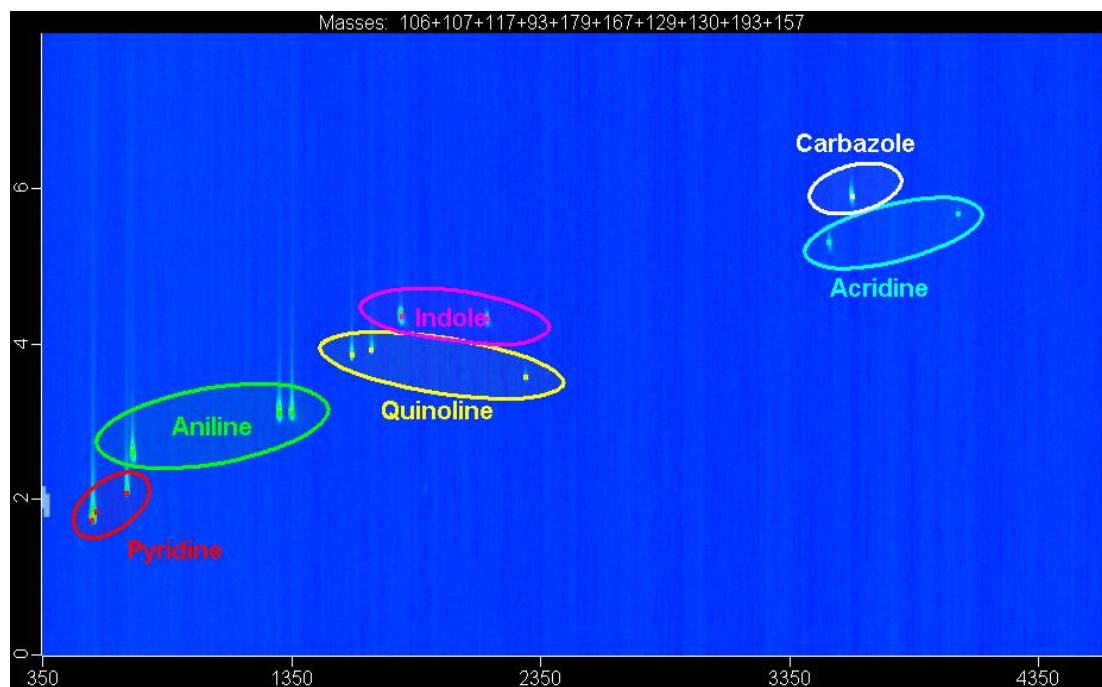
## 6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.3.1. Elección de columnas cromatográficas para el sistema GC×GC

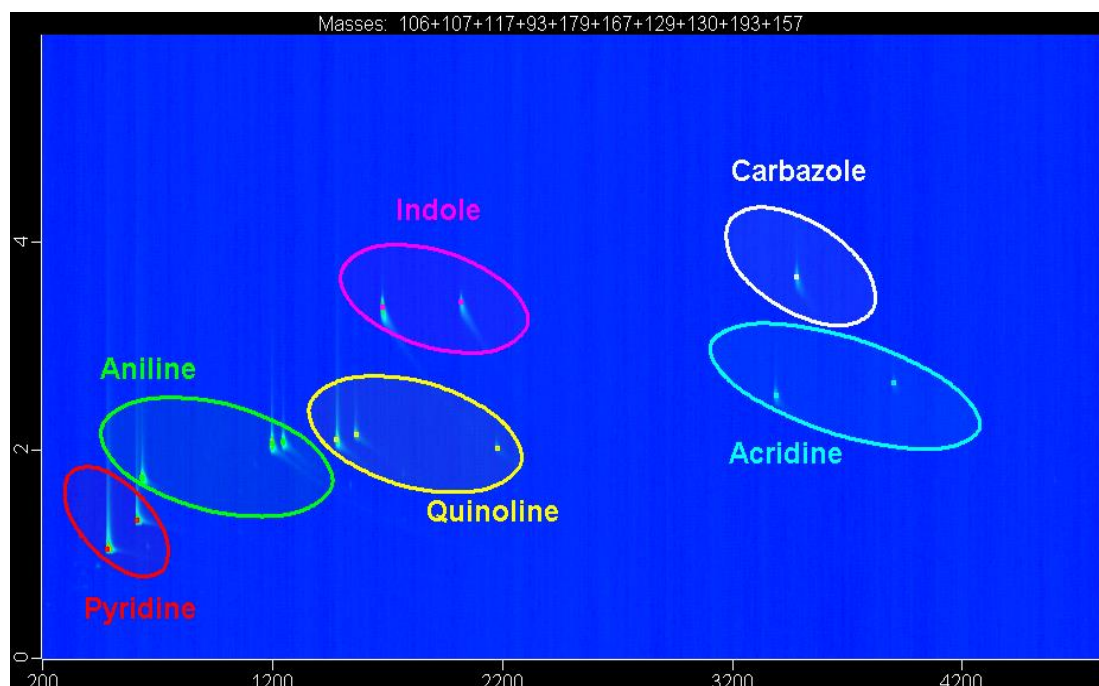
Se probaron cuatro sets de columnas para obtener una adecuada separación de los compuestos nitrogenados. Se estudió tanto la disposición de columnas en fase normal como en fase inversa. En la Tabla 21, están descritas las cuatro combinaciones empleadas para el desarrollo del método. Para la evaluación de las columnas se empleó una disolución multipatrón que contenía trece compuestos nitrogenados (ver sección 6.2.2). En la Figura 40 se pueden ver las separaciones obtenidas de los trece compuestos con las diferentes combinaciones de columnas. Ninguno de los cuatro sets proporcionó una buena separación de los compuestos. De hecho, el set de columnas C dio lugar a la peor separación entre anilinas y quinolinas. Los sets de columnas B y D, con columnas 2D muy polares, proporcionaron mejores separaciones de los compuestos, aunque cabe destacar que las especies básicas como son los indoles y los carbazoles presentaron colas en los picos, por lo que fueron descartados. El set A, dio lugar a separaciones similares a las combinaciones B y D, pero al ser la fase estacionaria de la columna 2D menos polar, los picos presentaron menos colas. Además, cabe destacar que la temperatura máxima de trabajo para la columna BPX-50 es la más alta, hasta 370 °C, frente a los 300 °C de las columnas IL-59 y ZB-1701 o los 270 °C de la HP-INNOWax. Por todos estos motivos el set A se consideró el más óptimo.

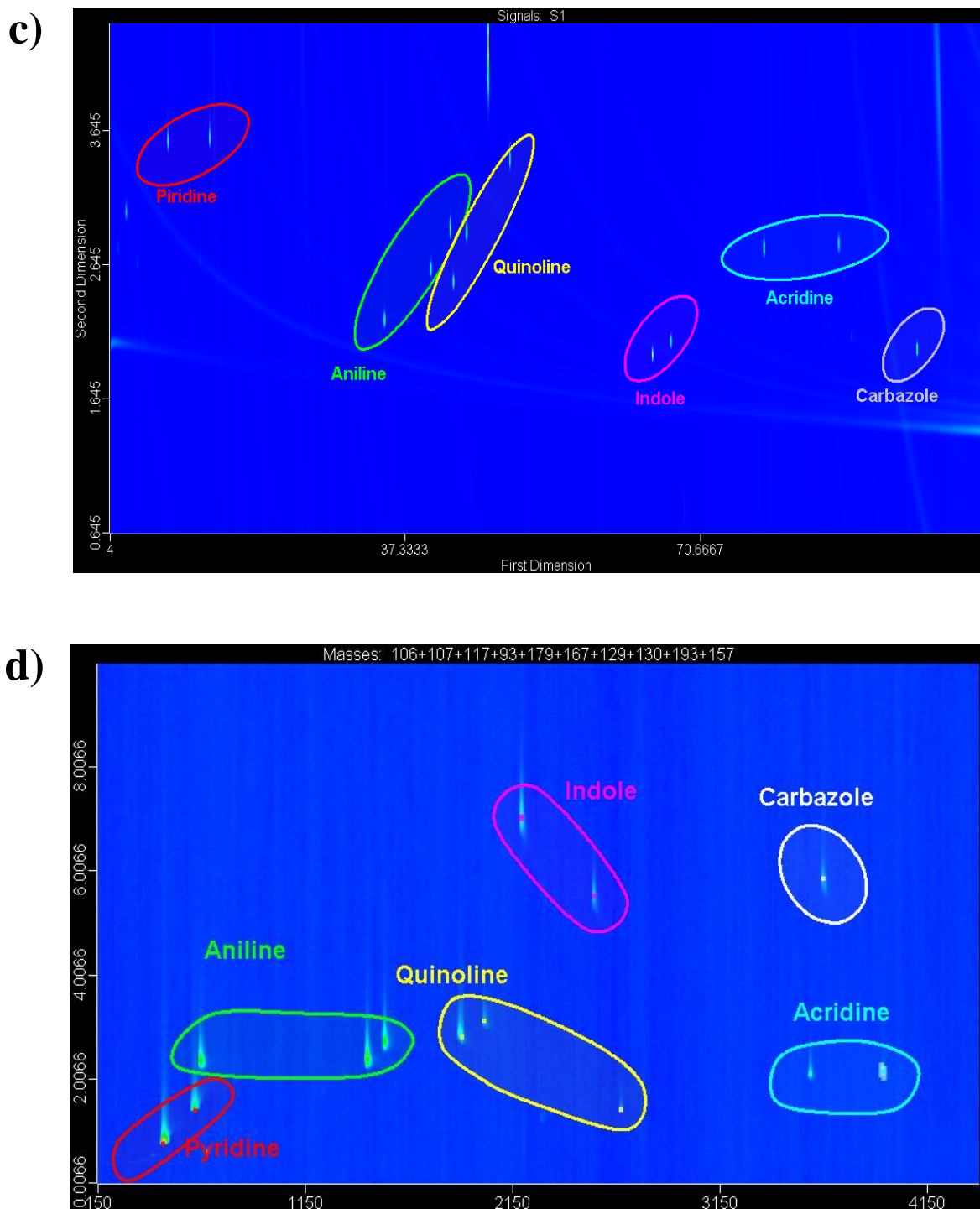
Aunque el set A consigue separar los analitos de la disolución multipatrón, cuando se trata de muestras con alto contenido en compuestos nitrogenados aparecen coeluciones entre las diferentes familias que dan lugar a una incorrecta identificación de las especies y, por consiguiente, a una incorrecta cuantificación de las familias.

a)



b)





**Figura 40:** Ampliación de cuatro cromatogramas en color 2D de la zona de elución de los compuestos nitrogenados presentes en la disolución patrón, obtenidos con los cuatro sets de columnas estudiados en GC×GC-NCD: **a)** Set A (DB-1×BPX-50), **b)** Set B (DB-1× ZB-1701), **c)** Set C (HP-INNOWax ×Equity-1) y **d)** Set D (DB-1×IL-59).



**Tabla 21:** Combinación de columnas estudiada en el sistema GC×GC-NCD para el desarrollo del método.

Set	Primera columna		Segunda columna	
A	DB-1	(30m×0,25mm×0,25μm)	BPX-50	(1m×0,10mm×0,10μm)
B	DB-1	(30m×0,25mm×0,25μm)	ZB-1701	(1m×0,10mm×0,10μm)
C	HP-INNOWax	(30m×0,25mm×0,25μm)	Equity-1	(1m×0,25mm×0,25μm)
D	DB-1	(30m×0,25mm×0,25μm)	IL-59	(1m×0,10mm×0,08μm)

ZB-1701: 14%cianopropilfenil-84%dimetilpolisiloxano. Phenomenex, USA.  
 DB-1: dimetilpolisiloxano. J&W Scientific, Folsom, CA, USA.  
 HP-INNOWax: polietileneglicol. J&W Scientific, Folsom, CA, USA.  
 BPX-50: 50% fenildimetilsiloxano. SGE, Courtaboeuf, France.  
 Equity-1: dimetilpolisiloxano. Supelco, PA, USA.  
 IL-59: 1,12-di(tripropilfosfonium)dodecano bis(trifluorometano-sulfonil)imida. Supelco, Bellefonte, USA.

### 6.3.2. Optimización de condiciones para el GC×GC-TOFMS/NCD.

Las condiciones cromatográficas optimizadas están recogidas en la Tabla 20. El intervalo de temperatura con el que se trabajó es de 60 a 290 °C para abarcar todo el intervalo de compuestos presentes en la muestra. Debido a la complejidad de las muestras estudiadas, la rampa de temperatura es de 2 °C·min<sup>-1</sup> para favorecer la separación de las especies. Además, se estableció una diferencia de temperatura de 5 °C entre los dos hornos para aumentar la separación en la segunda dimensión.

Se estableció un periodo de modulación largo, 10 s, para prevenir el *wrap-around* de los compuestos en la segunda dimensión. Además, el chorro caliente del modulador tenía una duración de 0,8 s para favorecer la elución de los compuestos más pesados, como son los carbazoles o las acridinas.

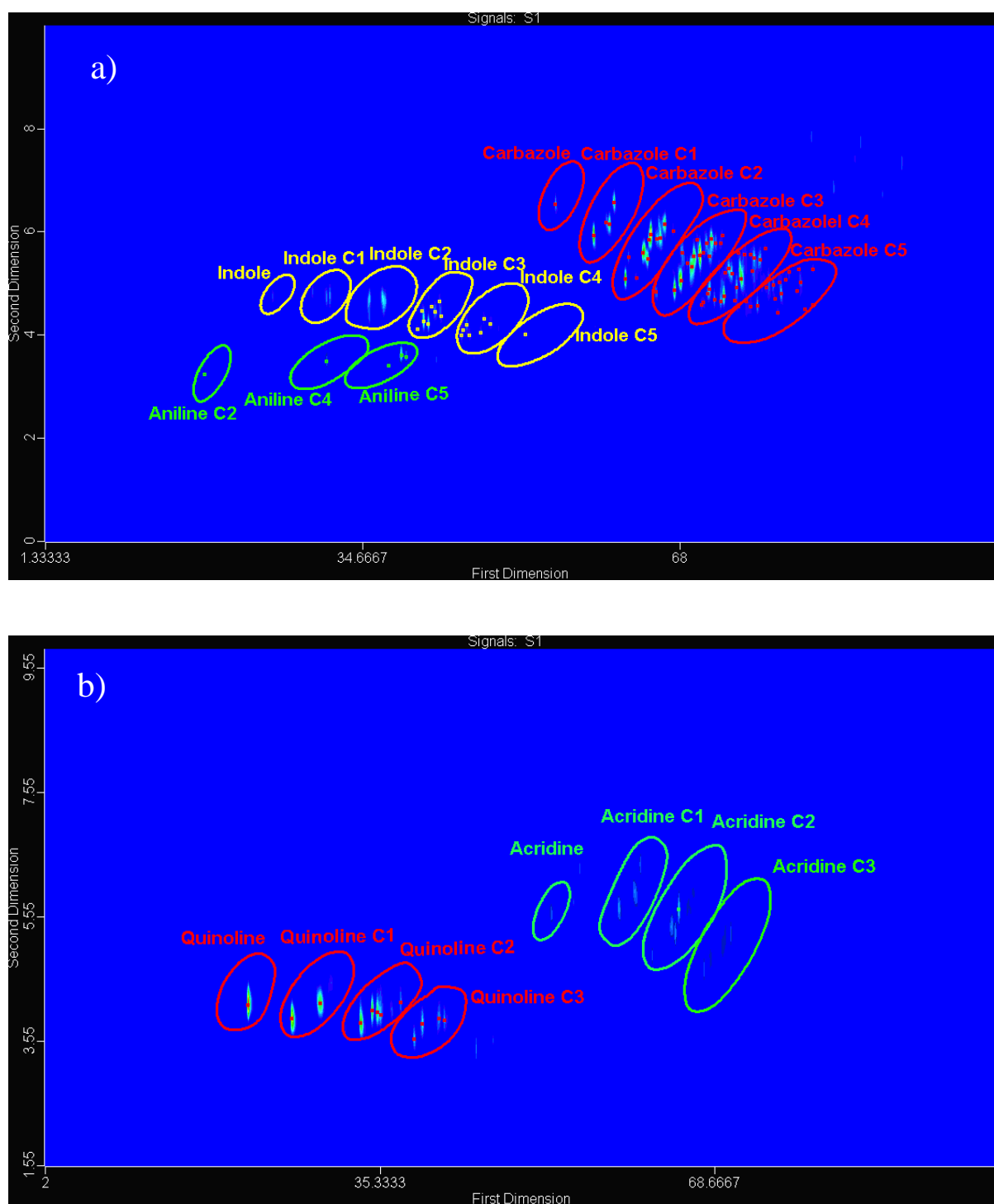
### 6.3.3. Fraccionamiento de compuestos nitrogenados con SPE

La ausencia de una separación cromatográfica total de las familias de compuestos nitrogenados en muestras muy complejas puede llevar a una identificación errónea de los compuestos y, por tanto a una incorrecta cuantificación de los mismos. Por esta razón, fue necesario un fraccionamiento previo de los compuestos nitrogenados presentes en la muestra. En este desarrollo, por las ventajas que presenta, se utilizó la técnica de extracción

en fase sólida para la separación de los compuestos nitrogenados. SPE no es simplemente una técnica de preparación de muestra, sino que además, elimina muchos inconvenientes asociados a la extracción líquido-líquido, como por ejemplo la formación de emulsiones [63], elevado uso de disolvente y consumo de tiempo. Además, la SPE tiene la ventaja de poder ser automatizada y trabajar con varias muestras a la vez.

En el método desarrollado, se utilizó la SPE para extraer los compuestos nitrogenados de la matriz y separarlos en dos fracciones: fracción de acetona y fracción de diclorometano. El método de SPE está adaptado de Wiwel et al. [173] y se describe en el apartado 6.2.4.

La fracción de diclorometano contenía anilinas, indoles y carbazoles, mientras que las piridinas, quinolinas y acridinas se encontraban en la fracción de acetona. Con este fraccionamiento se evitó la coelución entre piridinas-anilinas, quinolinas-indoles y acridinas-carbazoles en el cromatograma 2D. Las Figuras 41a y 42b muestran un cromatograma de color obtenido con el sistema GC×GC-NCD de las fracciones de diclorometano y acetona, respectivamente, de un destilado medio. En dichas figuras se puede observar la separación de las familias y la estructuración característica de los cromatogramas bidimensionales. Cada familia se ha agrupado en clústeres situados de forma sucesiva según su número de átomos de carbono (C0, C1, C2, etc.). Este ordenamiento estructurado permite la identificación de los compuestos aun en el caso de que no se disponga de todos los patrones y, por utilizar un detector NCD, es posible cuantificar cualquier familia de compuestos nitrogenados. Normalmente, las muestras petroquímicas contienen toda la serie homóloga de una familia de hidrocarburos; sin embargo, como se muestra en la Figura 41a, el grupo anilina-C3 no está presente. Esto puede ser debido a que la concentración del grupo anilina-C3 es más baja que el límite de detección del detector NCD. De hecho, sólo un compuesto perteneciente al grupo anilina-C2 y otro al grupo anilina-C4 fueron detectados.



**Figura 41:** Cromatogramas 2D de color de la fracción de diclorometano (a) y la fracción de acetona (b) obtenido de una muestra real de diésel.

#### 6.3.4. Evaluación del detector NCD

Con el fin de evaluar las condiciones analíticas del detector NCD, se analizó cinco veces una disolución estándar (sección 6.2.2). La respuesta equimolar fue determinada para cada compuesto nitrogenado mediante el cálculo de la respuesta de la señal del nitrógeno. La respuesta equimolar de los compuestos nitrogenados está relacionada con el peso molecular y el número de átomos de nitrógeno presentes en el compuesto (ver ecuación 1). Finalmente, se obtuvo un RSD inferior al 5 %.

$$RespuestaEq. = \frac{\text{Área} \times PM}{Num.N.atoms \times 14 \times Conc.N.comp} \quad ec.(1)$$

donde,

Respuesta eq.: es la respuesta equimolar de cada uno de los compuestos nitrogenados.

Área: área del compuesto nitrogenado.

PM: peso molecular del compuesto.

Num.N.atoms: número de átomos de N presentes en el compuesto.

Conc.N.comp: concentración del compuesto nitrogenado en la disolución estándar.

#### 6.3.5. Validación de método desarrollado: Comparación con métodos ASTM.

El método desarrollado fue validado y los resultados están recogidos en la Tabla 22. Primero se evaluó la linealidad de la respuesta del detector con patrones con concentraciones entre 0,5 y 25 mg·kg<sup>-1</sup>. Las familias estudiadas presentaron coeficientes de determinación superiores a 0,99.

Para determinar la repetibilidad del método, con la disolución patrón descrita en la sección 6.2.2, se realizaron cuatro réplicas de todo el procedimiento, desde la preparación de muestra hasta el análisis cromatográfico. Se calculó el dato de RSD de cada familia. Los carbazoles y las anilinas presentaron un RSD cercano al 7 %, mientras que el RSD más bajo (3%) se obtuvo para la familia de las piridinas.

El LOD y el LOQ se calcularon considerando tres y diez veces, respectivamente, la SD del área del ruido de la línea base al inyectar 10 veces una disolución estándar con aproximadamente 100 ppb de cada compuesto nitrogenado. Además, se calculó el valor promedio de LOD y LOQ para cada familia de nitrogenados estudiados en el método. Los límites más bajos se obtuvieron para los compuestos neutros.

La recuperación de las familias estudiadas se calculó utilizando la disolución patrón descrita en la sección 6.2.2 y se obtuvieron valores entre el 70 y el 110 %.

**Tabla 22:** Resultados de la validación del método desarrollado. Los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) fueron obtenidos de patrones estándar cubriendo un intervalo de concentración entre 0,5 y 25  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Los datos de RSD, recuperación, LOD y LOQ son valores promedios para cada una de las familias de nitrogenados.

	$R^2$	Promedio			
		RSD (%)	Recuperación (%)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
Carbazol	0,999	7,2	94,2	0,007	0,012
Anilina	0,995				
2-Etilanilina	0,997	7,2	79,1	0,003	0,010
4-Etilanilina	0,993				
Indol	0,999				
2-Metilindol	0,993	4,6	73,1	0,004	0,010
Acridina	0,996				
9-Metilacridina	0,995	5,8	111,4	0,010	0,020
Quinolina	0,999				
2,6-Dimetilquinolina	0,995	5,7	77,1	0,003	0,010
Isoquinolina	0,998				
2-Eilpiridina	0,992				
4-Eilpiridina	0,993	3,0	104,1	0,002	0,009

### 6.3.6. Análisis cuantitativo

Aunque con el sistema GC×GC se obtienen cromatogramas estructurados que facilitan la caracterización de los compuestos [96] sin la necesidad de detectores espectrométricos, para asegurar la correcta identificación en el sistema GC×GC-NCD fue necesario determinar previamente los tiempo de retención de las familias mediante GC×GC-TOFMS (condiciones cromatográficas Tabla 20). Para ello, se analizaron algunos patrones de compuestos

nitrogenados y las fracciones de algunas muestras obtenidas tras la extracción con SPE. Los compuestos fueron identificados mediante la librería de espectros NIST (v. 2.0). A continuación, empleando las mismas condiciones cromatográficas, se analizaron los mismos patrones y muestras mediante GC×GC-NCD y se verificaron los tiempos de retención de los compuestos identificados previamente mediante GC×GC-TOFMS. Posteriormente, gracias a la respuesta equimolar del detector NCD, se cuantificaron los compuestos detectados dentro de la zona de elución de las familias estudiadas.

De un total de treinta muestras analizadas mediante el método desarrollado, se han elegido, a modo de ejemplo, diez muestras (Tabla 23) por presentar diferente contenido en nitrógeno, diferentes familias nitrogenadas y diferente intervalo de destilación. Además, las muestras fueron analizadas mediante el método de referencia ASTM-4629 [172] para determinar el contenido en nitrógeno total con el fin de comparar los resultados obtenidos por ambas técnicas. Como se puede ver en la Tabla 23, hubo una buena concordancia entre los resultados en la mayoría de los casos. Sin embargo, el destilado A presentó una diferencia cercana al 20 %. Esto pudo ser debido a que no todo el nitrógeno contenido en la muestra petroquímica era orgánico o que el nitrógeno formaba parte de otras familias no estudiadas en el método y que pueden estar presentes en los destilados medios (ver sección 6.3.7).

**Tabla 23:** Datos de cuantificación de compuestos nitrogenados en destilados medios obtenidos mediante el método GC×GC-NCD y el método ASTM-4629. Las concentraciones están dadas en mg·L<sup>-1</sup>.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Carbazoles	222,1	23,9	686,0	303,2	297,5	503,3	126,7	147,2	939,5	0,0
Anilinas	0,0	0,0	21,2	6,7	0,0	53,5	0,0	26,2	14,9	16,7
Indoles	0,0	0,0	134,5	109,7	0,0	156,7	0,0	223,3	117,9	0,0
Acridinas	1,6	0,0	165,8	0,8	0,0	0,0	0,0	2,8	0,3	0,0
Quinolinas	0,8	0,0	5,8	0,0	0,0	8,2	0,0	83,1	0,0	0,0
Piridinas	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	31,6	0,0	0,6
N Total GC×GC-NCD	224,5	23,9	1047,3	420,4	297,5	721,1	126,7	514,2	1072,6	17,3
N Total ASTM-4629	276,0	23,0	1050,0	421,0	298,0	710,0	131,0	520,0	1068,0	18,0

La cuantificación de las familias nitrogenadas y de los compuestos se llevó a cabo según las ecuaciones (2) y (3), respectivamente. Gracias a la elución estructurada de las familias, fue posible identificar las especies y, por tanto conocer el peso molecular de los respectivos compuestos nitrogenados. Los valores de recuperación calculados para cada familia (Tabla 22) fueron aplicados para determinar el contenido total de nitrógeno en los destilados medios.

$$Conc. N = \frac{\text{Área} \times 100}{\text{Respuesta Eq.} \times \text{Recuperación}} \quad \text{eq.(2)}$$

$$Conc. N \text{ comp.} = \frac{\text{Área} \times PM \times 100}{\text{Num.N.atoms} \times 14 \times \text{Respuesta Eq.} \times \text{Recuperación}} \quad \text{eq.(3)}$$

donde,

Conc.N: concentración de nitrógeno.

Conc.N.comp: concentración del compuesto nitrogenado.

Respuesta Eq.: es la respuesta equimolar de cada uno de los compuestos nitrogenados.

Área: área del compuesto nitrogenado.

Recuperación: recuperación calculada para cada familia de compuestos nitrogenados.

PM: peso molecular del compuesto.

Num.N.atoms: número de átomos de N presentes en el compuesto.

### 6.3.7. Identificación de otros compuestos nitrogenados

Se identificaron otras familias de compuestos nitrogenados en varias muestras mediante GC×GC-TOFMS. Compuestos como los benzocarbazoles o las cinolinas fueron encontrados en muestras con mayor intervalo de destilación; dichos compuestos eluyeron en la fracción de diclorometano. En muestras más ligeras, se identificaron compuestos más volátiles, como son los pirroles y nitrilos, los cuales eluyeron en la fracción de acetona. Además, se identificaron compuestos como las formanilidas o las acridonas en los destilados medios, aunque cabe destacar que raramente fueron encontrados en las muestras estudiadas. Estos compuestos, además del átomo de nitrógeno, presentan un átomo de oxígeno en su estructura.

## **6.4. CONCLUSIONES**

El método propuesto, basado en una extracción y un fraccionamiento mediante SPE seguido de un análisis mediante GC×GC-NCD, permitió identificar y cuantificar compuestos de nitrógeno en una gran variedad de destilados medios. Estos destilados medios presentaban diferentes intervalos de ebullición y contenían distintas concentraciones y especies nitrogenadas. Gracias al fraccionamiento realizado se evitó la coelución de las familias nitrogenadas presentes en las muestras, lo que permitió obtener resultados más precisos. Estos resultados fueron comparados con los obtenidos mediante el método de referencia ASTM-4629 y se demostró la fiabilidad del método desarrollado.

Este método resulta útil en la industria petroquímica, ya que permite conocer la distribución de los compuestos orgánicos nitrogenados y su concentración en diferentes tipos de destilados medios. Además, el método propuesto abarca los niveles típicos de concentración de nitrógeno presente en los productos petroquímicos (entre 20 y 1000 mg·L<sup>-1</sup>), lo que demuestra la versatilidad del método, ya que se puede aplicar al análisis de destilados más ligeros o más pesados.





# 7

## **CAPITULO 7. Cuantificación del aditivo desactivador de metales en gasóleos**

### **7.1. INTRODUCCIÓN**

En la actualidad, con el fin de mejorar las propiedades de los combustibles comerciales, los productores añaden diferentes aditivos a los carburantes. Estos aditivos suelen ser detergentes, dispersantes e inhibidores de espumas, de oxidación y de corrosión de los combustibles. La acción conjunta de los aditivos consigue:

- Motor más limpio
- Combustión más limpia
- Mayor vida útil del motor
- Menor consumo de combustible
- Menor cantidad de emisiones
- Menor toxicidad de las emisiones

Cada aditivo empleado tiene una función en el carburante y puede añadirse individualmente o formando un paquete de aditivos. De hecho, existen estudios que describen el efecto de algunos de estos aditivos cuando se han añadido de forma individual o de forma conjunta [174]. Dichos estudios demuestran que algunas combinaciones de aditivos pueden resultar ser más eficaces que añadir un único aditivo, ya que conjuntamente se potencia su acción.

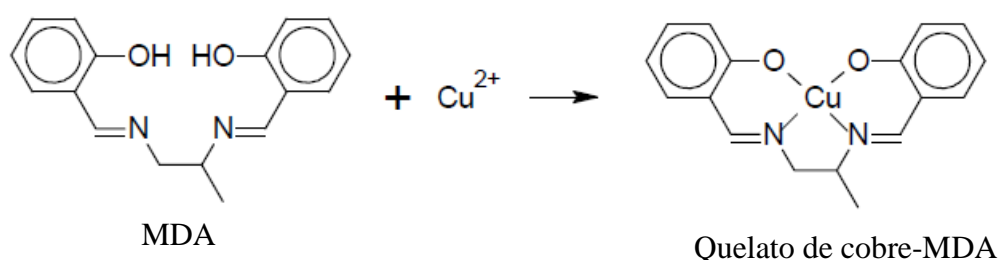
Aditivos como los detergentes y los dispersantes se emplean para eliminar y prevenir coagulaciones de pequeños depósitos de carbón en los motores que pueden obstruir el paso de combustible.

Otro aditivo importante es el llamado desactivador de metales. Este aditivo se lleva empleando desde hace sesenta años para inhibir la oxidación de los combustibles catalizada por diferentes metales que puede contener la matriz. Estos metales pueden ser cobre, cadmio, hierro, cobalto o zinc y, aunque están presentes a niveles traza, pueden afectar negativamente a la estabilidad del combustible [175].

Hay diferentes tipos de desactivadores de metales. Uno de los primeros que fue desarrollado es el N,N'-disaciliden-1,2-propanodiamina (comúnmente denominado como MDA) y sus beneficios sobre la estabilidad del producto ya han sido descritos en trabajos previos [176].

Se cree que el mecanismo de acción de este aditivo está relacionado con su estructura química. Como se ve en la Figura 42, la molécula contiene dos grupos imino y dos grupos fenólicos. A estos grupos funcionales se les atribuyen dos principios de acción [177].

- Quelación con los metales: el MDA interacciona fuertemente con el metal e impide que catalice reacciones de oxidación del combustible (Figura 42).
- Reacción con la matriz: cualquier otra reacción que cambie la estabilidad del combustible y en la que no participen los metales. Estas reacciones podrían ser de ácido/base o de descomposición del peróxido de hidrógeno.



**Figura 42:** Reacción del MDA con cobre que da lugar a un quelato

Conocer la concentración de MDA en los carburantes resulta útil, ya que ayuda a entender mejor el efecto que tiene el MDA sobre los metales en la matriz y, por tanto se puede establecer la cantidad óptima de MDA en los paquete de aditivos. Striebich et al [178]

propusieron un método cuantitativo para la determinación de MDA en queroseno basado en GC-MS. El análisis requería una derivatización previa del MDA mediante una reacción de sililación. Posteriormente, los iones con masa 220 y 235, por ser los más abundantes, se emplearon para la cuantificación del aditivo derivatizado. Sin embargo, no existe ningún método que sea capaz de determinar el aditivo MDA en otras matrices más pesadas como es el gasóleo.

En este trabajo se desarrolla un método nuevo y fiable para identificar y cuantificar MDA libre, sin acomplejar con metales, en muestras de gasóleo mediante GC×GC-NCD previamente derivatizado con BSTFA. La primera parte de este estudio trata sobre la evaluación de las técnicas GC-MS y GC-NCD para llevar a cabo dicho análisis. Sin embargo, por no conseguir resultados adecuados, en la segunda parte del estudio se trabajó con un sistema GC×GC-NCD. Gracias a esta técnica se consiguieron solventar los problemas de coelución entre el MDA y la matriz; además, se obtuvieron menores LOD y LOQ que con las técnicas unidimensionales. Por último, se procedió a la validación del método y al análisis de una serie de muestras de gasóleo recogidas de diferentes productores.

## **7.2. PARTE EXPERIMENTAL**

### **7.2.1. Patrones**

Para el experimento se trabajó con N,N'-disililiden-1,2-propanodiamina (MDA) y N,O-Bis(trimetilsilil)trifluoroacetamida (BSTFA) que fueron adquiridos en BASF y Sigma Aldrich, respectivamente.

### **7.2.2. Preparación de patrones**

Se prepararon cinco patrones con un intervalo de concentración entre 1,4 y 8,6 mg·kg<sup>-1</sup> para construir una recta de calibrado de cinco puntos. Los patrones se prepararon disolviendo el desactivador MDA en diésel B7 que corresponde a una mezcla de diésel mineral con 7 % de biodiésel (FAME). Se empleó un diésel B7 para simular el gasóleo del mercado español según la normativa vigente en ese momento. Para el análisis cromatográfico, los patrones fueron derivatizados (ver sección 7.2.4).

### 7.2.3. Muestras

Se recogieron diez muestras de gasóleo A y diez muestras de gasóleo B de diferentes productores de gasóleo para determinar la presencia del aditivo MDA en las muestras. El gasóleo A se utiliza principalmente como carburante para automóviles, mientras que el gasóleo B se emplea para usos agrícolas.

La preparación de las muestras consistió simplemente en la reacción de derivatización (ver sección 7.2.4).

### 7.2.4. Derivatización de MDA

Tanto los patrones como las muestras tuvieron que ser derivatizadas con BSTFA para poder detectar el MDA mediante cromatografía de gases (GC-MS, GC-NCD y GC×GC-NCD). Para ello se añadieron 60 µL de BSTFA a una alícuota de 1 mL de cada patrón estándar, mientras que para 1 mL de muestra se añadieron 100 µL de derivatizante. La reacción de derivatización transcurrió durante 20 min a temperatura ambiente en un agitador vortex.

### 7.2.5. Sistema cromatográfico

#### 7.2.5.1. GC-MS

En el experimento se utilizó una columna apolar DB-5MS 60 m × 0,25 mm × 0,25 µm (Agilent Technologies, Massy, France). El flujo de gas portador fue de 1 mL·min<sup>-1</sup> y se inyectaron 0,2 µL de muestra a 300 °C en modo *splitless*. La temperatura inicial del horno fue de 150 °C y se incrementó hasta los 300 °C a 10 °C·min<sup>-1</sup>; dicha temperatura se mantuvo durante 10 min y se volvió a incrementar hasta los 325 °C a 20 °C·min<sup>-1</sup> manteniéndola durante 15 min. El tiempo total fue de 42,25 min. La temperatura de la fuente y la del detector qMS se fijó en 230 °C y 150 °C, respectivamente.

#### 7.2.5.2. GC-NCD

Para el análisis de MDA en gasóleo con este sistema se aplicaron las mismas condiciones cromatográficas que para el sistema GC-MS (ver sección 7.2.5.1).

Para el análisis de MDA en paquete de aditivos se utilizó una columna apolar DB-5MS 30 m × 0,32 mm × 0,25 µm (Agilent Technologies, Massy, France). El flujo de gas portador fue de 1,5 mL·min<sup>-1</sup> y se inyectó 1 µL de muestra a 250 °C en modo *splitless*. La temperatura

inicial del horno fue de 85 °C y se incrementó hasta los 300 °C a 15 °C·min<sup>-1</sup>. El tiempo total fue de 14,7 min.

Las condiciones del detector NCD para ambos ensayos son las mismas que para el sistema GC×GC-NCD y se pueden ver en la Tabla 24.

#### **7.2.5.3. GC×GC-NCD**

En el experimento se empleó una columna apolar en la primera dimensión (DB-1, 30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) y una columna de polaridad media en la segunda (BPX-50, 2 m × 0,10 mm × 0,10 µm, Supelco, PA, USA).

Las condiciones cromatográficas de GC×GC-NCD fueron optimizadas y están recogidas en la Tabla 24.

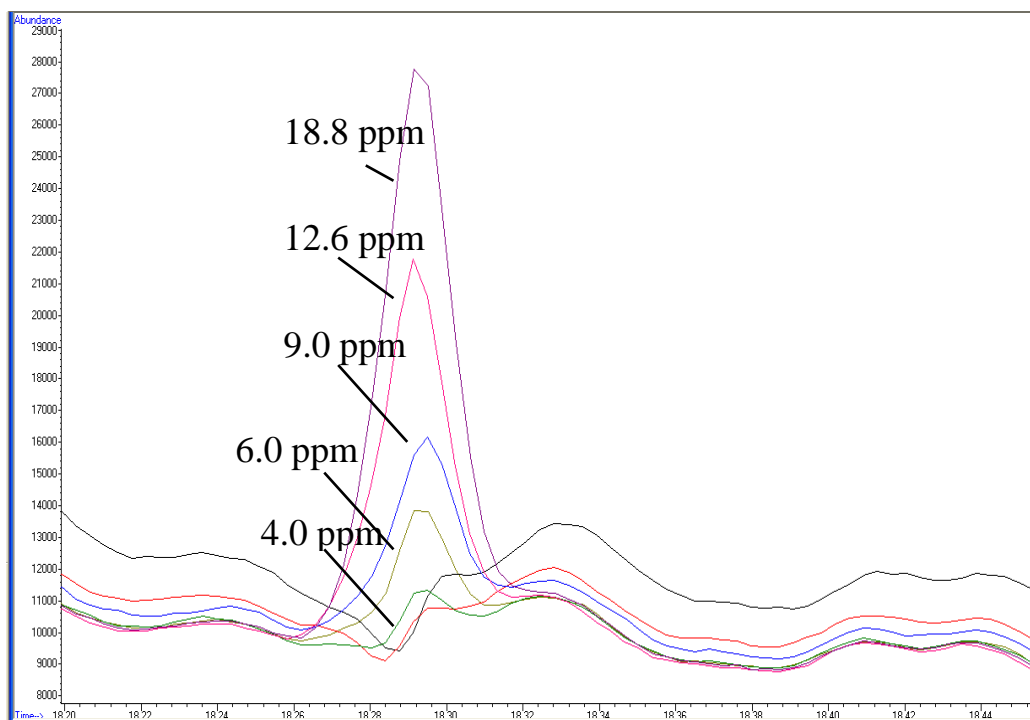
### **7.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **7.3.1. Elección de sistemas cromatográficos**

##### **7.3.1.1. GC-MS**

Según la literatura [178], el método GC-MS es adecuado para determinar MDA derivatizado en queroseno, por tanto, se intentó determinar MDA derivatizado mediante GC-MS. Sin embargo, mediante este sistema no se consiguieron LOD lo suficientemente bajos, ya que no fue posible detectar concentraciones inferiores a 4 mg·kg<sup>-1</sup> de MDA. Inicialmente, se pensó que debido a la reactividad del MDA con sitios activos, éste quedó adsorbido sobre el vidrio del material empleado para preparar los patrones. Sin embargo, como se describió en el trabajo de Striebich et al, la adsorción al vidrio del MDA influye especialmente a concentraciones inferiores a 1 mg·kg<sup>-1</sup>, mientras que concentraciones entre 2 y 6 mg·kg<sup>-1</sup> son fácilmente detectables. La razón principal para la baja respuesta del MDA pudo ser debido al efecto matriz originado por la coelución entre el MDA derivatizado, un monoglicérido derivatizado, en particular la monopalmitina, y la n-parafina C26. La presencia del monoglicérido en la muestra resulta ser una contaminación del biodiésel debido a una incompleta transesterificación durante la producción del mismo. La cantidad de parafina y de monopalmitina fue mucho mayor que la de MDA y, aunque la señal fue adquirida en modo SIM seleccionando los iones 178, 220 y 235 m/z, la señal de MDA sufrió

variaciones probablemente debido a una ionización ineficiente por efecto matriz [179]. Como se ve en la Figura 43, cuando la concentración de MDA era inferior a  $4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  su señal se confundía con el ruido. Por tanto, se concluyó que un análisis cuantitativo de MDA en gasóleos mediante GC-MS no era posible para concentraciones inferiores a  $4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ .



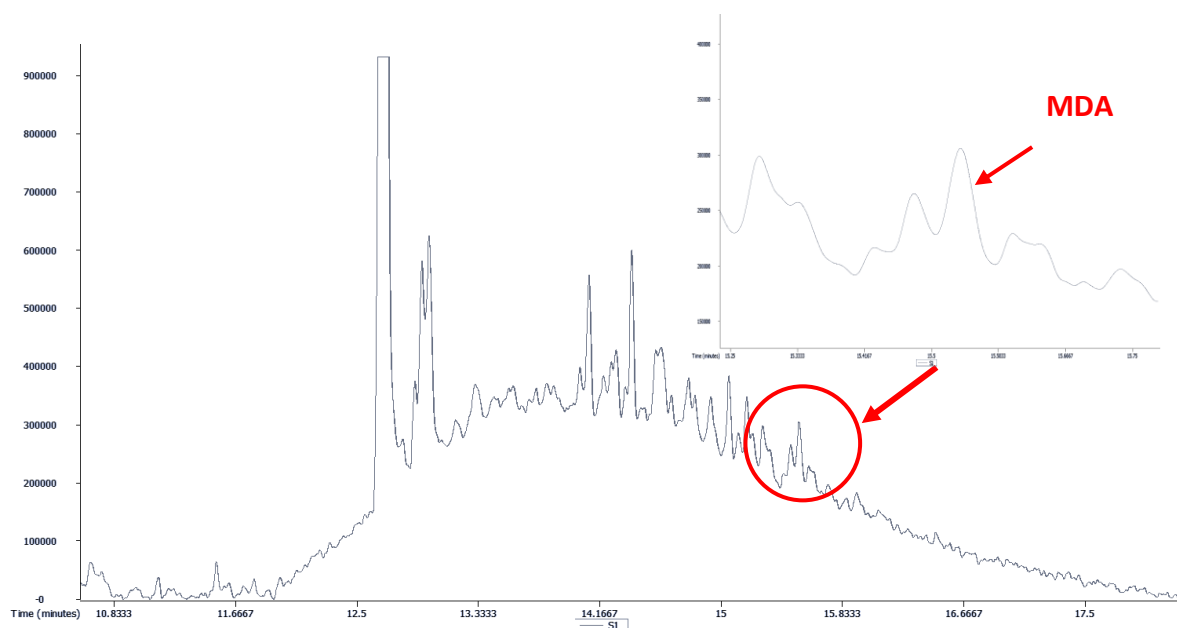
**Figura 43:** Ampliación de un cromatograma, obtenido mediante GC-MS en modo SIM, de la zona de elución del MDA silanizado presente en una muestra de gasóleo. Los iones seleccionados para el análisis fueron 178, 220 y 235 m/z.

### 7.3.1.2. GC-NCD

Debido a la alta sensibilidad y selectividad del detector NCD para los compuestos nitrogenados, se probó la cromatografía unidimensional GC-NCD. En principio, la detección quimioluminiscente no estaría influenciada por la coelución entre el MDA y los otros compuestos (ver Sección 7.3.1.1), por lo que sería posible detectar bajas concentraciones de MDA. Además, teniendo en cuenta que el detector NCD tiene una respuesta lineal y equimolar [59] [64], el factor de respuesta de MDA aumenta al contener la molécula dos átomos de nitrógeno.

Las condiciones cromatográficas utilizadas fueron las mismas que las descritas en el método GC-MS (ver sección 7.2.5.1) y la identificación se realizó mediante tiempos de retención con patrón estándar.

No obstante, la cromatografía unidimensional GC-NCD finalmente también tuvo que ser descartada. El efecto matriz causó fluctuaciones en la línea base y el pico de MDA presentó forma y tamaño irregular después de repetidas inyecciones del mismo patrón (ver Figura 44). Esto influyó negativamente en la exactitud y precisión de la técnica.



**Figura 44:** Cromatograma obtenido mediante GC-NCD de una muestra de gasóleo aditivado con MDA

### 7.3.1.3. GC×GC-NCD

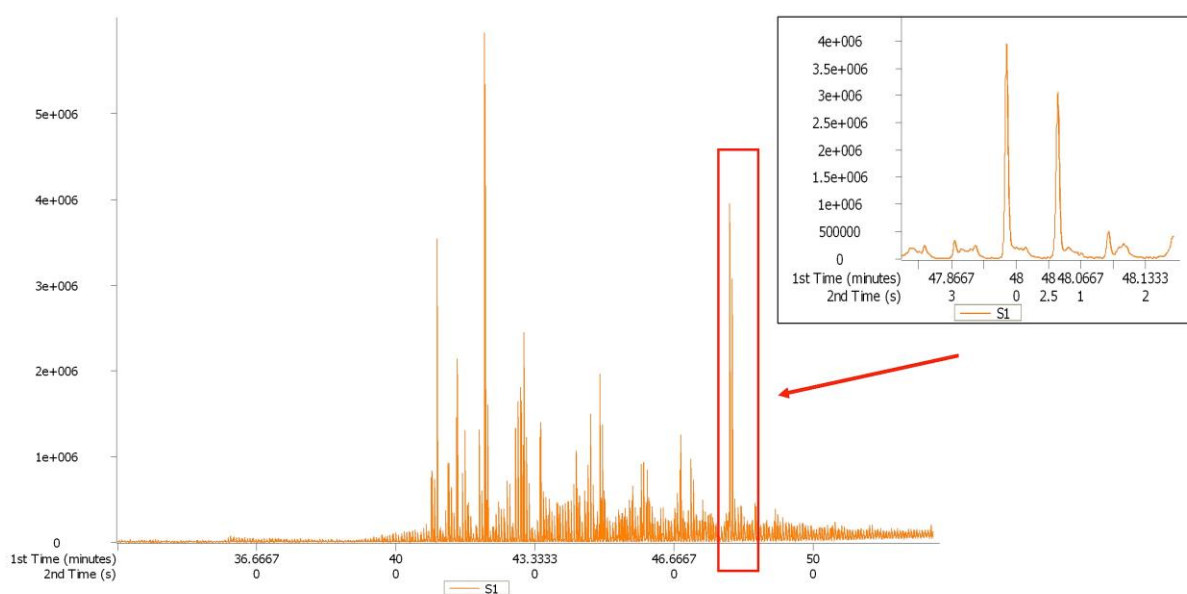
Se añadió una segunda dimensión al sistema GC-NCD para solventar los problemas encontrados en los otros sistemas unidimensionales. Las condiciones cromatográficas del método GC×GC-NCD están recogidas en la Tabla 24.

La Figura 45 muestra un cromatograma bruto de una muestra de gasóleo dopada con 7 ppm de MDA en el cual se pueden ver los picos modulados obtenidos mediante GC×GC-NCD; mientras que la Figura 46 es una ampliación de un cromatograma de color de la zona de elución del MDA silanizado obtenido de la misma muestra de gasóleo. Para el experimento se empleó una combinación de columnas frecuentemente empleada para muestras petroquímicas [180]. Se estableció una diferencia de temperaturas de 5 °C entre el primer y el segundo horno y una rampa suave de temperatura con el fin de mejorar la resolución de los compuestos. Además, se empleó un tiempo de modulación ( $P_M = 4$  s) corto con el mismo propósito.

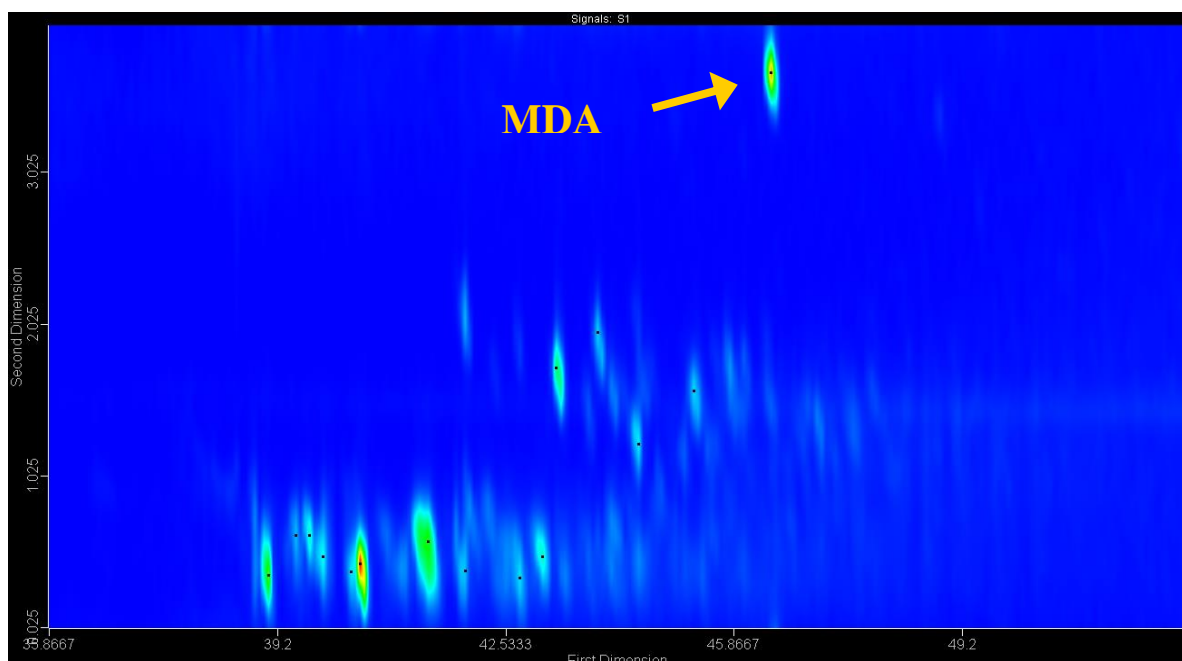


**Tabla 24:** Condiciones cromatográficas optimizadas para el sistema GC×GC-NCD

GC×GC	
Columna 1D	DB-1 (dimetilpolisiloxano) (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm)
Columna 2D	BPX-50 (50% fenildimetilpolisiloxano) (2 m × 0,10 mm × 0,10 μm)
Inyección	1 μL <i>splitless</i> a 300 °C
Flujo gas portador	Flujo constante: 1,5 mL·min <sup>-1</sup> He
Tª Horno principal	De 80 °C a 290 °C a 4 °C·min <sup>-1</sup>
Tª Horno secundario	De 85 °C a 295 °C a 4 °C·min <sup>-1</sup>
Tª Modulador	30 °C por encima del horno principal
Periodo de modulación	4 s, chorro caliente 0,8 s
NCD	
Tª de transferencia	200 °C
Tª quemador	900 °C
Flujo oxígeno	9 sccm
Flujo hidrógeno	3 sccm
Presión Plasma Dual	100 Torr



**Figura 45:** Cromatograma bruto de una muestra de gasóleo con 7 mg·kg<sup>-1</sup> de MDA. Ampliación de la zona de elución del pico modulado de MDA.

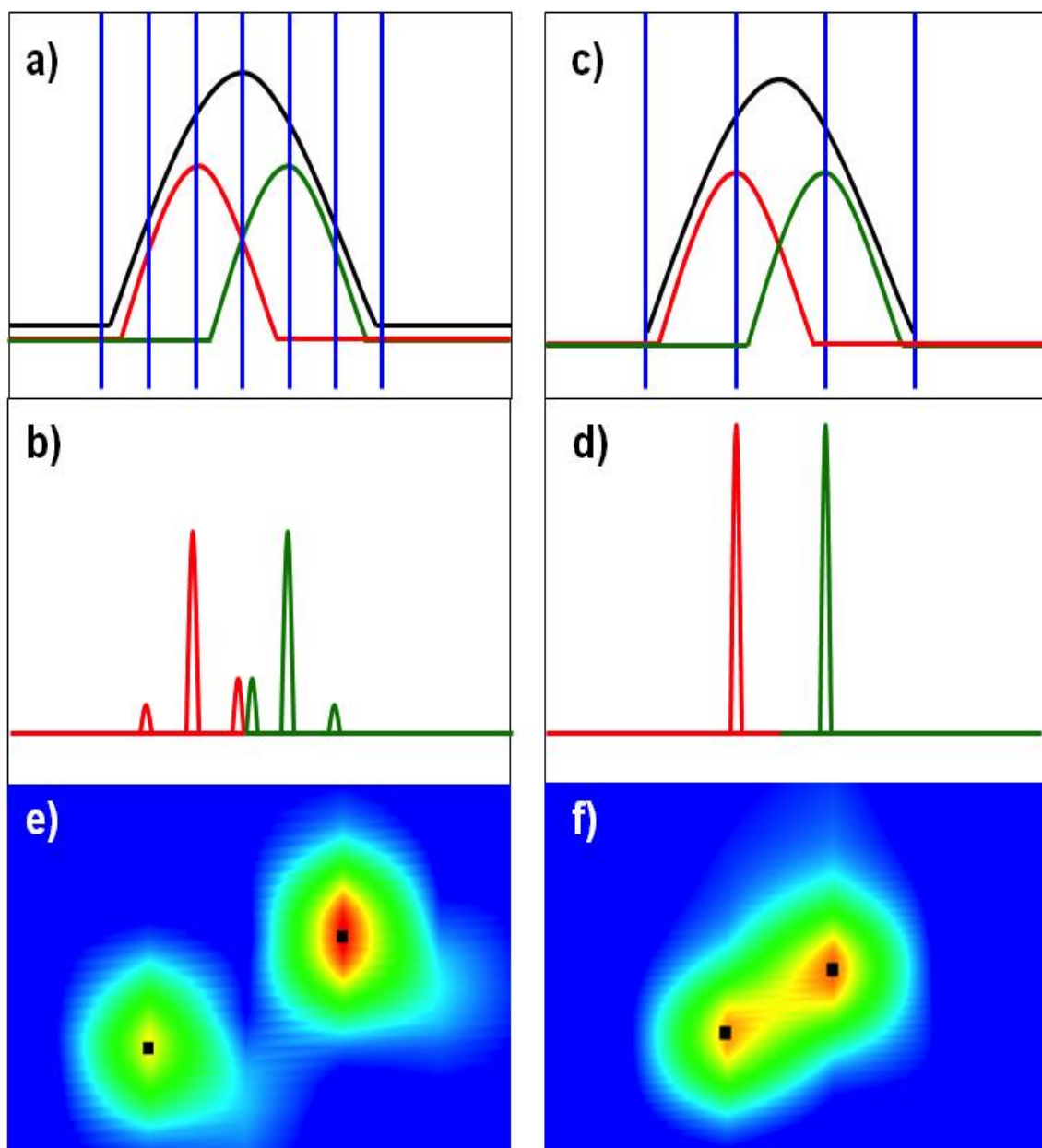


**Figura 46:** Ampliación de la zona de elución del MDA derivatizado en un cromatograma de color 2D de una muestra de gasóleo con  $7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  del aditivo MDA.

La optimización del  $P_M$  es muy importante cuando se trabaja con muestras complejas o con concentraciones bajas de analito, ya que cortos  $P_M$  (Figura 47a) preservan la resolución obtenida en la primera dimensión y se evita que los picos coeluyan. Sin embargo, largos  $P_M$  dan lugar a pocas modulaciones (Figura 47b), y como se vio en la sección 2.1. es necesario que el pico esté modulado al menos tres veces. Sin embargo, hay que tener en cuenta que  $P_M$  largos son más adecuados para bajas concentraciones de analito o para análisis más precisos, ya que al estar toda la masa del analito retenida en unos pocos picos, estos presenta mayores alturas y áreas, lo que favorece su detección. Por el contrario,  $P_M$  cortos originan muchos picos modulados en los que se distribuye toda la masa del analito y, por tanto los picos tienen áreas y alturas más pequeñas, especialmente los picos modulados situados en los extremos. Dichos picos pueden ser tan pequeños que pueden difuminarse con el ruido y, en consecuencia, sus áreas no se cuantificarían, lo que dificultaría el análisis traza.

Además, hay que tener en cuenta el efecto *wrap-around* que es más común con  $P_M$  cortos que pueden dar lugar a nuevas coeluciones. Por todas estas razones, es necesario llegar a un compromiso entre un corto o largo  $P_M$ .

En este ensayo, se eligió un  $P_M$  corto debido a la complejidad de la muestra y las coeluciones observadas en las anteriores secciones. Se prefirió incrementar la resolución, y no la sensibilidad, ya que los niveles de concentración estudiados fueron fácilmente detectados. Por consiguiente, como se ve en la Figura 46, utilizando  $P_M$  cortos en la separación bidimensional fue posible separar el MDA silanizado de la matriz y solventar los problemas encontrados con la cromatografía unidimensional (GC-MS y GC-NCD).



**Figura 47:** Simulación del proceso de modulación de dos picos coeluidos trazados en color rojo y verde, respectivamente, empleando un  $P_M$  corto (a-b) y otro largo (c-d) representado con líneas azules; (e) y (f) muestran una ampliación de un cromatograma en color de dos picos obtenidos con un  $P_M$  corto y otro largo, respectivamente.

### 7.3.2. Validación del método desarrollado

Para validar el método se evaluaron los siguientes parámetros: linealidad, repetibilidad, límite de detección y cuantificación.

La respuesta lineal fue determinada preparando una curva de calibrado formada por cinco puntos y tres réplicas de cada punto. Las disoluciones patrón de MDA tenían un intervalo de concentración entre  $1,4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $8,6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . La curva de calibrado presentó un coeficiente de determinación superior a 0,99 y la ecuación de calibración fue  $y=(5,326x-5,592)\cdot 10^7$ .

La repetibilidad del procedimiento completo, desde la preparación de la muestra hasta el análisis cromatográfico, fue evaluada con el valor de RSD que se calculó analizando cinco disoluciones patrón con  $7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de MDA. El valor final de RSD fue de 3 %.

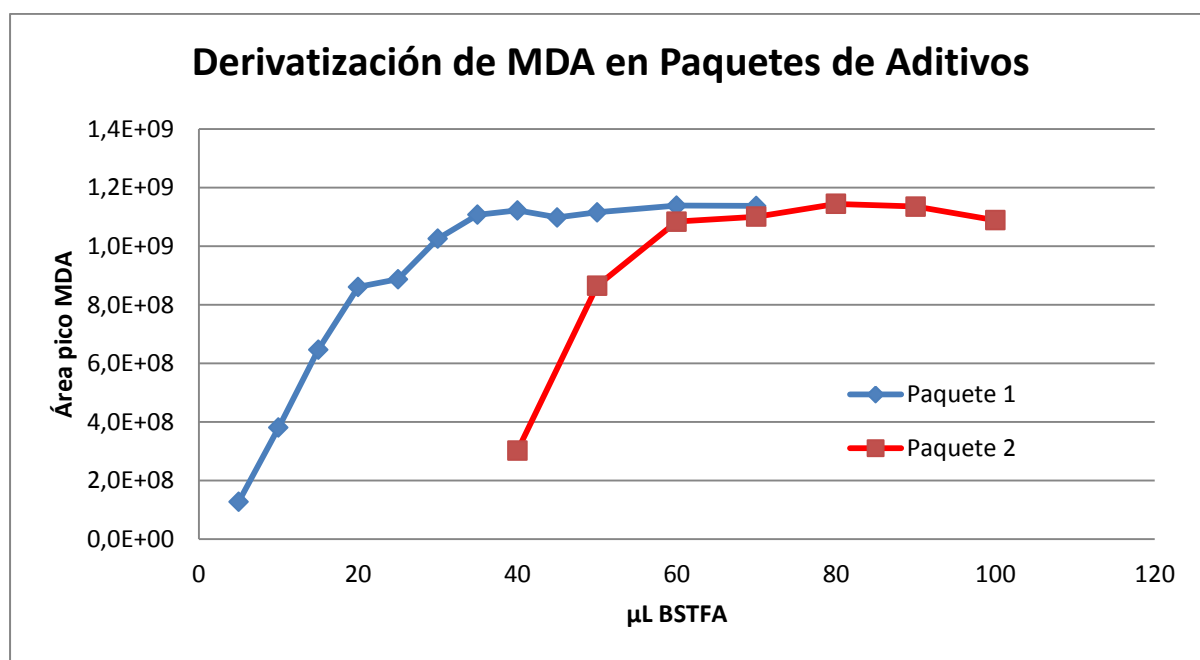
El LOD y LOQ fueron calculados considerando tres y diez veces, respectivamente, la desviación estándar de la relación señal-ruido, al inyectar 10 veces una disolución estándar con  $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  de MDA. Los valores de LOD y LOQ fueron de  $0,46 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $0,66 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , respectivamente.

### 7.3.3. Análisis de muestras

Veinte muestras de gasóleo recogidos del mercado español fueron analizadas para estudiar la presencia de MDA. Fue necesario añadir BSTFA en exceso, 100  $\mu\text{L}$ , a una alícuota de 1 mL de muestra, ya que los gasóleos pueden contener otros aditivos o ésteres metílicos de ácidos grasos que también son susceptibles a la derivatización.

La cantidad de derivatizante se determinó analizando dos paquetes de aditivos utilizados en Repsol S.A. con diferente composición tanto en naturaleza como en concentración. Estos paquetes de aditivos son similares a los empleados por otros productores de combustibles, por lo que se tomaron como referencia para determinar la cantidad necesaria de derivatizante con objeto de derivatizar totalmente el MDA presente en los paquetes o en las muestras. Los paquetes de aditivos se diluyeron en n-heptano para obtener una concentración de MDA de 7 ppm en disolución (la misma concentración de MDA que en gasóleo). A continuación, se añadieron cantidades crecientes de derivatizante a cada uno de los paquetes estudiados (Paquete 1 y Paquete 2). Las muestras fueron analizadas mediante el sistema GC-NCD y las condiciones están descritas en la sección 7.2.5.2. Se empleó la cromatografía de gases convencional, porque debido a las características de las muestras no

se consideró necesario el empleo de la cromatografía GC×GC, ya que con el sistema GC-NCD se obtuvo un pico de MDA muy bien resuelto y definido.



**Figura 48:** Variación del área del pico de MDA frente a los microlitros de BSTFA añadidos al Paquete 1 y 2 respectivamente.

En la Figura 48 se puede observar la variación del área del pico de MDA frente a la cantidad de derivatizante (BSTFA) añadido. En el Paquete 1 se observa una estabilización de la señal a partir de 35  $\mu\text{L}$  de BSTFA, mientras que para el Paquete 2 fueron necesarios 70  $\mu\text{L}$  de derivatizante. Esto es debido a la distinta formulación de los paquetes de aditivos, ya que uno de ellos contiene más antioxidantes que también se derivatizan con BSTFA. Por desconocer el tipo de paquete de aditivos con MDA que se añadió a las diferentes muestras de gasóleo analizadas, se decidió añadir BSTFA en exceso (100  $\mu\text{L}$ ), para asegurar la completa derivatización de MDA.

Como se puede ver en la Tabla 25, el aditivo MDA fue detectado tanto en gasóleos A como en B, aunque no todas las muestras contenían el aditivo, por lo que se puede deducir que no todos los productores lo añaden a sus productos.

La mayoría de las muestras contenía una concentración de MDA entre 4 y 5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , aunque concentraciones más altas también fueron encontradas como es el caso de las muestras E y J.

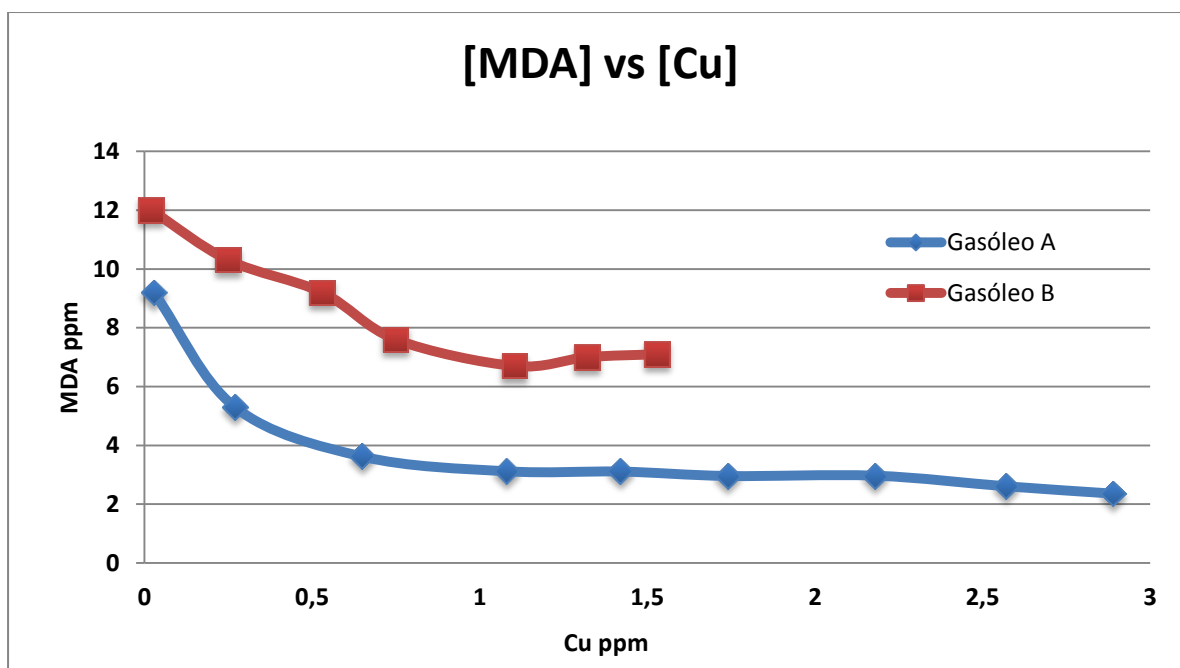
**Tabla 25:** Contenido de MDA ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) determinado en muestras de gasóleo A y B recogidas del mercado español.

Gasóleo A	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Contenido MDA	ND	ND	4,5	ND	6,9	5,3	ND	ND	5,6	6,5
Gasóleo B	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
Contenido MDA	ND	ND	ND	ND	5,0	5,3	ND	ND	5,6	4,7

#### 7.3.4. Influencia del MDA sobre el contenido de cobre

Como se ha mencionado anteriormente, el MDA se añade al combustible con el fin de evitar su oxidación al formar el MDA quelatos con los metales presentes en las muestras. Por este motivo y, con el objetivo de evaluar la interacción del MDA con los metales, se han añadido diferentes cantidades de cobre a muestras de gasóleo A y B con 9 y 12 ppm de MDA, respectivamente. Se escogió el cobre, porque es el metal con mayor actividad catalizadora en las reacciones de oxidación. Una vez añadidas las diferentes cantidades de cobre, las muestras de gasóleo se analizaron mediante GC×GC-NCD, aplicando las condiciones cromatográficas descritas en la Tabla 24. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 49 para el gasóleo A y B, respectivamente.

Para ambos gasóleos se observa una disminución del MDA libre en disolución a medida que aumenta la cantidad añadida de cobre en las muestras de gasóleo, hasta llegar a una estabilización de la señal del MDA, cuando la concentración de cobre es superior a 1ppm. Con esta gráfica se confirma que, efectivamente, el MDA reacciona con el Cu evitando las reacciones de oxidación que desestabilizan el gasóleo, pero no consigue atrapar todo el Cu, por lo que sigue quedando cobre libre en disolución.



**Figura 49:** Variación de la concentración de MDA frente a la cantidad de Cu añadido a gasóleo A y B

#### 7.4. CONCLUSIONES

Se consiguió cuantificar MDA en muestras de gasóleo con el nuevo método desarrollado. El método se basa en una etapa de derivatización previa del analito con BSTFA y un análisis posterior mediante GC × GC-NCD. El método desarrollado ha sido validado, demostrando así su fiabilidad para determinar el contenido en MDA en muestras de gasóleo dentro del intervalo normal de concentración.

Se ha demostrado que GC × GC es una técnica potente y versátil que ha podido solventar los problemas encontrados en la cromatografía de gases convencional. En efecto, mediante la adecuada elección del tiempo de modulación en la separación bidimensional se evitó la coelución del MDA con la matriz de la muestra y se obtuvieron resultados más precisos que en GC unidimensional. Las ventajas de la técnica GC × GC frente a la cromatografía de gases convencional conduce a su utilización de forma creciente para analizar muestras complejas de este tipo.

# 8

## CAPÍTULO 8. Conclusiones

El objetivo de esta tesis era la implementación de la técnica GC×GC en el campo del refino para resolver cuatro problemáticas encontradas en la industria petroquímica, ya que con las técnicas analíticas convencionales no se pudieron resolver. Estas problemáticas eran la determinación de FAME en queroseno, la caracterización de destilados medios mediante el análisis PIONA, la especiación de nitrogenados en destilados medios y, por último, la determinación de un desactivador de metales en gasóleos. Para cada uno de los casos se ha desarrollado y validado un método y los resultados obtenidos se han comparado con los respectivos métodos de referencia.

Genéricamente se ha demostrado las ventajas que ofrece la técnica GC×GC frente a la cromatografía convencional y se han podido solventar muchos problemas encontrados en análisis petroquímico debido a la complejidad de dichos ensayos. Así mismo, de forma más específica:

Determinación de FAME en queroseno: aplicando el análisis ANOVA se ha demostrado que los resultados obtenidos mediante el nuevo método (GC×GC-FID) son más precisos que los del método de referencia (GC-MS); y que si se dispone de esta técnica en el laboratorio, el método propuesto puede ser una buena alternativa por las ventajas que ofrece como son la robustez, exactitud y sensibilidad. Por consiguiente, tanto el sistema GC×GC-FID como el sistema GC-MS son adecuados para el análisis de FAME en gasóleos y no es necesario recurrir a una técnica más poderosa de identificación como es el sistema GC×GC-TOFMS.



Análisis PI(ON)A en destilados medios: este método ha permitido caracterizar de forma detallada muestras de queroseno según el tipo y el número de átomos de carbono de los compuestos. Al utilizar un sistema GC×GC con un detector espectrométrico, como es el TOFMS, y no un detector FID se han podido identificar correctamente compuestos coeluidos pertenecientes a distintas familias, a excepción de los naftenos y las olefinas. Además, las herramientas quimiométricas como son la *Classification* y *Scripting*, han facilitado enormemente el manejo del gran volumen de datos, ya que mediante estas herramientas se ha clasificado, identificado y semicuantificado de forma correcta un gran número de compuestos que forman las muestras. Además, se estudió el acoplamiento de una tercera dimensión como es el HPLC, con la que se consiguió solventar los problemas de coelución que presentan los naftenos y las olefinas.

Especiación de compuestos nitrogenados en destilados medios: la combinación del sistema GC×GC-NCD con la técnica de SPE evitó la coelución de algunas familias nitrogenadas, por lo que se pudo cuantificar de forma correcta los compuestos nitrogenados empleando un detector selectivo y de respuesta equimolar, como es el NCD. El método propuesto abarca un intervalo bastante amplio de concentración de nitrógeno, lo que permite su aplicación a una gran variedad de muestras.

Cuantificación del desactivador de metales en gasóleos: el método desarrollado mediante GC×GC-NCD permite la determinación de un aditivo como es el desactivador de metales en gasóleos. En este trabajo de investigación se puso claramente de manifiesto como la cromatografía de gases convencional no es capaz de solventar muchos problemas analíticos encontrados a la hora de analizar muestras complejas.

Según las conclusiones a las que se ha llegado en cada uno de los cuatro trabajos de investigación, y en el conjunto de la tesis, se puede afirmar que los buenos resultados obtenidos, hacen que actualmente la cromatografía GC×GC resulte indispensable en la industria petroquímica y que puede ser de gran utilidad en otros campos de investigación en los que se trabaje con muestras complejas.

## 9

## CAPÍTULO 9. Sugerencias para trabajos futuros

Durante el desarrollo de este trabajo se han demostrado las grandes ventajas que ofrece el empleo de la cromatografía bidimensional para la separación de compuestos. Sin embargo, a pesar del poder de resolución de esta técnica, siguen produciéndose coeluciones entre compuestos en muestras complejas como son, en este caso, las muestras petroquímicas. Para solventar estos problemas algunos investigadores han empezado a incorporar más técnicas cromatográficas que aumentan la dimensionalidad del sistema total. Por eso ya se pueden encontrar algunos trabajos de investigación en los que se emplean sistemas HPLC-GC×GC, SFC-GC×GC o GC×GC×GC. Concretamente, en este trabajo de investigación se han realizado algunas pruebas mediante el acoplamiento *off-line* del sistema HPLC al sistema GC×GC. Sin embargo, el acoplamiento de una tercera dimensión es todavía reciente, por lo que una posible sugerencia para trabajos futuros sería investigar más a fondo estas nuevas combinaciones mediante el estudio de las ventajas e inconvenientes que ofrecen estos sistemas y su aplicación a diferentes campos de análisis.

Por otra parte, se puede decir que la Química ha entrado en la era de las *ómicas*. Este sufijo indica un abordaje completo de un campo concreto de investigación; así, se pueden encontrar líneas de investigación como la genómica, metabolómica, proteómica o lipidómica. En el caso de la industria petroquímica, las nuevas líneas de investigación tienden a la petroleómica. Este término se utiliza para describir el estudio de todos los compuestos de un crudo de petróleo es decir, a nivel molecular, y cómo estos componentes afectan al

comportamiento y a las propiedades del mismo. Un conocimiento exhaustivo de su composición permitiría a las petroleras producir más eficientemente, predecir problemas en la producción, reducir desechos y, en definitiva, aumentar la rentabilidad del proceso. Este interés por la caracterización del petróleo y sus productos se ha visto incrementado en los últimos años: por la subida del precio del crudo, por el empleo de crudos más pesados, más ácidos y con mayor cantidad de azufre y por la introducción de la espectrometría de masas de alta resolución.

En la actualidad, la espectrometría de masa con analizador de transformada de Fourier de resonancia iónica en ciclotrón (FT-ICRMS) es la técnica analítica que puede ofrecer una información más detallada de la composición de los crudos. Es capaz de resolver e identificar simultáneamente cada uno de los miles de componentes presentes en las muestras más complejas. Así mismo, es capaz de separar y clasificar los compuestos de petróleo según sus heteroátomos ( $N_nO_oS_s$ ), los dobles enlaces equivalentes ( $DBE = \text{número de anillos más los dobles enlaces del carbono}$ ) y el número de átomos de carbono. Su reciente aplicación en la industria del petróleo ha revelado que los crudos contienen más de 20.000 composiciones elementales distintas ( $C_cH_hN_nO_oS_s$ ).

Ya existen publicados algunos artículos de investigación sobre la petroleómica en los que se emplea el FT-ICR-MS en el estudio de los crudos; sin embargo, por ser un campo nuevo, se mantienen las necesidades de investigación. Por tanto, teniendo en cuenta que se considera el futuro del análisis del petróleo los esfuerzos irán enfocados hacia este campo.

# Publicaciones

Chromatographia  
DOI 10.1007/s10337-012-2320-7

ORIGINAL

## Determination of Trace Levels of Fatty Acid Methyl Esters in Aviation Fuel by GC $\times$ GC–FID and Comparison with the Reference GC–MS Method

Kristina Lissitsyna · Sonia Huertas ·  
Rocio Morales · Luis Carlos Quintero ·  
Luis María Polo

Received: 6 June 2012 / Revised: 15 August 2012 / Accepted: 20 August 2012  
© Springer-Verlag 2012

**Abstract** Due to the negative impact of the presence of fatty acid methyl esters in kerosene for the aviation industry, in this work a comprehensive two-dimensional gas chromatography method with flame ionization detector for the determination of trace levels of fatty acid methyl esters in kerosene was developed. It is based on the use of a first dimension polar column and a second dimension non-polar column. Identification of fatty acid methyl esters is based on retention times and the external standard calibration is used for quantitation. Results were compared with those obtained from the GC–MS reference method; good recoveries, close to 100 %, and limit of detection in a range from 3 to 6  $\mu\text{g kg}^{-1}$  were found without requiring a specific detector.

**Keywords** Gas chromatography · Comprehensive two-dimensional gas chromatography · Time of flight mass spectrometry · Kerosene · Fatty acid methyl esters

### Introduction


As a result of the growing interest in improving the emission profile of ground and aviation transportation, new fuels have been developed. Biodiesel is a widely accepted alternative fuel for diesel engines due to its technical and environmental advantages [1]. It is obtained by

transesterification reactions of vegetable oils or animal fats to give the fatty acid methyl esters (FAME). However, FAME is a surface-active material able to adhere to container and pipe walls; this could give rise to the cross-contamination of products such as kerosene which come in contact with these surfaces. At sufficiently high concentrations, FAME can affect the thermal stability of the fuel, which could cause coke deposits in the fuel system leading to engine failure. FAME can also affect the freezing point of jet fuel resulting in gelling of the fuel [2]. This has raised a concern with airlines and engine manufacturers. The use of aviation jet fuel containing less than 5 ppm ( $5 \text{ mg kg}^{-1}$ ) has been approved [3]. However, a recent study carried out by the aviation fuel industry Energy Institute indicates that jet fuel containing up to 30 ppm of FAME does not pose risks to flight safety [4]. The determination of low levels of FAME in kerosene is quite difficult due to the complexity of the sample. FAME can be determined by the reference IP PM-DY/09 method [5] (the new version is IP 585/10 [6]) by one-dimensional GC–MS using the selective ion monitoring/scan (SIM) acquisition method. The quality of GC–MS analysis in full scan mode often suffers due to coelution of compounds in complex samples; therefore, it is necessary to work with a SIM acquisition method to determine low levels of FAME. However, comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC  $\times$  GC) provides a two-dimensional separation where the entire sample is separated on two columns having different polarities and should provide enough FAME resolution [7, 8]. The first separation usually takes place on a non-polar GC column and the second on a polar column; peak capacity becomes the product of each peak capacity column ( $n_1 \times n_2$ ) [9]. Furthermore, two-dimensional GC may prove to be faster than one-dimensional GC because shorter columns can be used.

K. Lissitsyna (✉) · L. M. Polo  
Departamento de Química Analítica, Universidad Complutense de Madrid, Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain  
e-mail: clissitsyna@hotmail.com

S. Huertas · R. Morales · L. C. Quintero  
Centro Tecnológico de Repsol, Carretera de Extremadura, NV, km 18, 28935 Móstoles, Madrid, Spain

Published online: 12 October 2012

 Springer

Comprehensive two-dimensional gas chromatography in combination with FID was considered as a technique for detecting low levels of FAME in jet fuel in the Def Standard 91-91 [3] in which a method developed by Shell Research Ltd (RTS Report GS.06.50289) was mentioned. However, as far as we know, there is no published method for this analysis. In this work, a GC  $\times$  GC-FID (flame ionization detector) method was developed for the characterization and quantitation of FAME in kerosene at low levels and compared with the reference method IP PM-YD/09. A reverse phase column set was used (a polar first column and a non-polar second column). First, a GC  $\times$  GC-TOFMS (time of flight mass spectrometer) method was optimized and then slightly modified and refined to get the proposed GC  $\times$  GC-FID method because this detector is more convenient for routine analysis. As in the IP PM-YD/09 method, the FAME species listed in Table 1 were chosen because they are typically above 95 % of the total FAME; in addition, the C17:0 was included in case FAME was produced from animal fats. Results were compared with those supplied by the reference method. For this purpose, six free FAME kerosene samples were spiked with different FAME concentrations which were analyzed using both analytical methods.

## Experimental

### Standards

Commercial FAME standards from Fluka Analytical which specified purity above 99 %, except for C18:2 which was 98.5 % (listed in Table 1) were used in this work.

### Stock and Standard Solution Preparation

To increase the precision of the procedure, two stock solutions, STD 1 and STD 2, both containing 500 mg kg<sup>-1</sup>

of each species of FAME indicated in Table 1, were prepared by dissolving the six commercial FAME standards in *n*-dodecane. Both stock solutions were stored at 4 °C for not more than 3 months.

STD 1 was used to prepare the 0.5, 3, 10 and 50 mg kg<sup>-1</sup> standard solutions and STD 2 was used to prepare the 1.2, 5 and 20 mg kg<sup>-1</sup> standard solutions. The standard solutions were stored at 4 °C and were prepared fresh prior to the experiment.

### Calibration Curves

Using the standard solutions (see above), two calibration curves were generated for each FAME species. One calibration curve was generated with 0.5–5 mg kg<sup>-1</sup> standard solutions for samples containing less than 5 mg kg<sup>-1</sup> of the FAME species, and another one with 0.5–50 mg kg<sup>-1</sup> standard solutions for samples where any of the species are present at concentrations greater than 5 mg kg<sup>-1</sup>.

### Samples

Commercial kerosene from Sigma–Aldrich, free of FAME, was spiked with the calibration solutions of FAME dissolved in *n*-dodecane (described in “[Stock and Standard Solution Preparation](#)”) to prepare six samples (A–F) with a known FAME content, resulting in total FAME in kerosene concentrations ranging between 0.5 and 100 mg kg<sup>-1</sup>. In addition, ten kerosene samples (K1–K10) were collected from Spanish suppliers and analyzed also by GC–MS and GC  $\times$  GC-FID.

### GC–MS Instrumentation

The GC–MS system consists of a HP 6890 GC fitted with a HP 5973 MS detector and a split/splitless injector (7683 Autosampler Injector). As in the IP PM-DY/09 method, a polar column (HP-INNOWax 50 m  $\times$  0.2 mm  $\times$  0.4  $\mu$ m,

**Table 1** Fatty acid methyl esters determined

Fatty acid methyl ester	Molecular formula	Symbol used	SIM ions used for quantitation
Methyl hexadecanoate (methyl palmitate)	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	C16:0	227, 239, 270, 271
Methyl heptadecanoate (methyl margarate)	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	C17:0	241, 253, 284
Methyl octadecanoate (methyl stearate)	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	C18:0	255, 267, 298
Methyl octadecenoate (methyl oleate)	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	C18:1	264, 265, 296
Methyl octadecadienoate (methyl linoleate)	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	C18:2	262, 263, 264, 294, 295
Methyl octadecatrienoate (methyl linolenate)	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	C18:3	236, 263, 292, 293

J&W Scientific, Folsom, CA, USA) was used. A volume of 1  $\mu\text{L}$  of sample was injected at 290  $^{\circ}\text{C}$  in splitless mode. The oven temperature was increased from 150 (hold 1 min) to 200  $^{\circ}\text{C}$  at a rate of 20  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ ; the temperature was held for 17 min and ramped to 252  $^{\circ}\text{C}$  at 3  $^{\circ}\text{C min}^{-1}$  (hold 2 min). Helium flow rate was kept constant at 0.6  $\text{mL min}^{-1}$ . The MS source and qMS Detector temperature were set at 230 and 150  $^{\circ}\text{C}$ , respectively.

#### GC $\times$ GC Instrumentation

The GC  $\times$  GC system consists of a 7890 GC (Agilent Technologies) fitted with a  $\text{N}_2$  quad jet thermal modulator (LECO) and split/splitless injector (model 7683 Autosampler Injector). In the experiment, a polar column HP-INNOWax (28  $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ , J&W Scientific, Folsom, CA, USA) was used as the first dimension and a non-polar column (Equity-1 1  $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ , Supelco, PA, USA) as the second dimension. Two detectors were used, FID and TOFMS (Pegasus 4D from Leco). The collected data were analyzed with Leco-ChromaTOF software optimized for Pegasus 4D and FID.

Both GC  $\times$  GC-FID and GC  $\times$  GC-TOFMS chromatographic conditions had to be optimized for this analysis and they are indicated in Table 2.

#### Statistical Methods

Analysis of Variance (ANOVA) was used to determine if there are any significant differences between the mean values of the two methods. All calculations were performed with the aid of StatGraphics 5.0 software.

#### GC-MS and GC $\times$ GC-FID Procedures

GC-MS analysis of FAME in kerosene was performed in agreement with the IP PM-DY/09 reference method. The selected FAME species for identification and their SIM

ions used for quantitation in GC-MS (SIM) are listed in Table 1.

## Results and Discussion

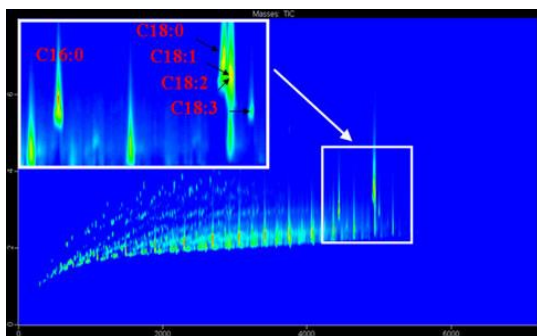
### Optimization of the GC $\times$ GC-FID Method

A standard solution containing 50  $\text{mg kg}^{-1}$  of each species of FAME dissolved in *n*-dodecane and a kerosene sample spiked with biodiesel at 10  $\text{mg kg}^{-1}$  concentration level were employed for method development.

GC  $\times$  GC analysis usually employs a non-polar  $\times$  polar column combination which enables the separation of compounds according to their volatility in the first dimension and to their polarity in the second dimension [10–12]. Such conditions are considered to be optimal as an orthogonal separation is achieved [7]. Seeley et al. [13] analyzed biodiesel blends using a primary column with a 5 % diphenyl, 95 % dimethylpolysiloxane stationary phase and a second column with a polyethylene glycol stationary phase. Moreover, Seeley et al. [14] recently fully separated FAME species from a kerosene matrix using a 50 % phenylmethylpolysiloxane column as the first dimension while a polymethyltrifluoropropylsiloxane column was used as the second dimension. In both cases, FAME was eluted from the hydrocarbon matrix. However, this combination of columns failed to discriminate FAME species according to the number of double bonds; for instance, C18:1, C18:2 and C18:3 coeluted. The “normal-phase” column combination in GC  $\times$  GC-TOFMS which is used to determine FAME in kerosene was studied to confirm these facts. Thus, a 100 % dimethylpolysiloxane 40  $\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$  column (DB-PETRO, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) and a polyethylene glycol 2  $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$  column (HP-INNOWax, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) were employed. As shown in Fig. 1, an inadequate separation of saturated compounds and FAME was

**Table 2** Optimized chromatographic conditions

	GC $\times$ GC-TOFMS	GC $\times$ GC-FID
Columns	First column: HP-InnoWax (28 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ ) Second column: Equity-1 (1 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$ )	
Injection	1 $\mu\text{L}$ splitless at 300 $^{\circ}\text{C}$	
Flow	1.0 $\text{mL min}^{-1}$ He	2.0 $\text{mL min}^{-1}$ He
Modulation	30 $^{\circ}\text{C}$ above the first oven temperature 6 s $P_M$ , hot pulse: 0.6 s	
Temperature	First oven: 130–165 $^{\circ}\text{C}$ at 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ and ramped to 220 $^{\circ}\text{C}$ at 2 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ Second oven: set 15 $^{\circ}\text{C}$ above first oven temperature	First oven: 130–165 $^{\circ}\text{C}$ at 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ and ramped to 210 $^{\circ}\text{C}$ at 2 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ Second oven: set 15 $^{\circ}\text{C}$ above first oven temperature
Detector	$T_{\text{SOURCE}}$ : 250 $^{\circ}\text{C}$ $T_{\text{TRANSFER LINE}}$ : 225 $^{\circ}\text{C}$	350 $^{\circ}\text{C}$



**Fig. 1** 2D colour plot of a kerosene sample spiked with biodiesel obtained by GC  $\times$  GC–TOFMS with a normal phase column combination

achieved because FAME species were eluted just above the paraffins. For instance, C16:0 coeluted with *iso*-paraffins and, as described in the mentioned works [13, 14], this column combination was not capable of separating the individual C18 FAME species from one another. Therefore, it proved difficult to quantify the individual FAME species for source identification.

The reversed mode, e.g., polar  $\times$  non-polar column combination is considered “less orthogonal” [15] but has shown to be advantageous since it extends the separation space for the characterization of the aromatic fraction in petroleum middle distillates [16] and provides improved resolution of FAME from hydrocarbons in biodiesels. Adam et al. [17] used a polar  $\times$  non-polar column combination to characterize the level of FAME in biodiesel blends. They found that FAME still eluted in the monoaromatic region of the 2D chromatogram. However, analyzed biodiesel containing 5 % (v/v) FAME could be easily identified owing to their high concentration in the sample. Regarding kerosene, its aromatic content is commonly lower than that in diesel and FAME do not overlap with monoaromatic hydrocarbons; therefore, FAME trace levels can be accurately quantified. Thus, the separation of FAME from the kerosene matrix and compounds from a possible contamination with diesel was performed by the “reversed phase” column combination. Therefore, the polarity order was changed; a polar column (HP-InnoWax, 28 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) was used as the first dimension and a non-polar column (Equity-1, 1 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m, Supelco, PA, USA) as the second dimension. Due to the polarity of the new set of columns, most of the kerosene matrix eluted at the beginning of the 2D chromatogram whereas the individual FAME species eluted at the end. As shown in Fig. 2, the set of columns employed in this system accomplished a better separation between FAME and hydrocarbon compounds. For instance, C18:0, C18:1, C18:2 and C18:3 can clearly be

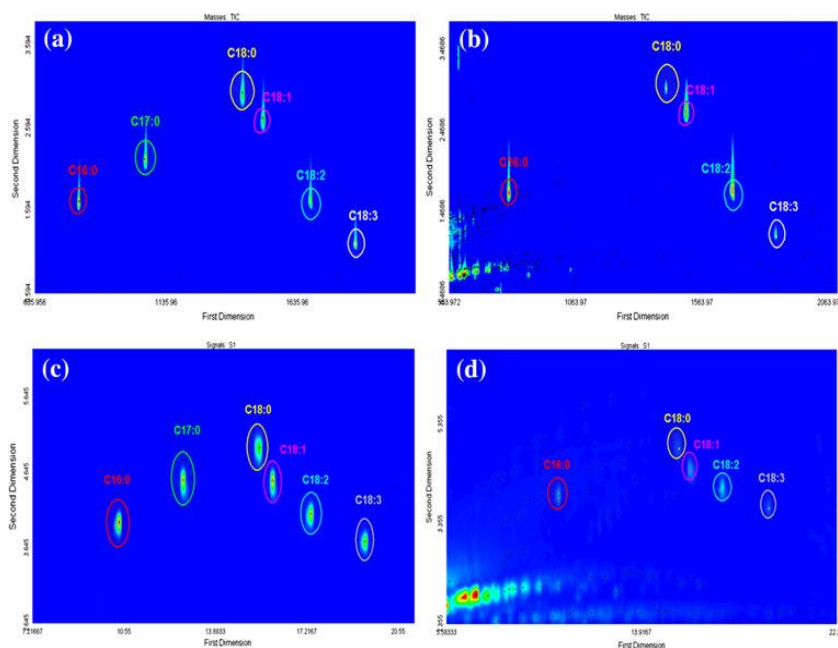
distinguished on the chromatographic plane while the hydrocarbon matrix eluted beneath the FAME species. Thus, the elution of the hydrocarbon compounds close to the FAME justified the use of two-dimensional gas chromatography. For instance, to enhance the response of FAME species in GC–MS method a multiple SIM is required as it is not possible to obtain a complete separation with a polar column. Optimized GC  $\times$  GC–TOFMS chromatographic conditions [18, 19] are shown in Table 2. To detect low levels of FAME it was necessary to inject 1  $\mu$ L volume in splitless mode and the temperature program, studied in a range from 60 to 210  $^{\circ}$ C, was optimized according to the volatility of FAME and the kerosene matrix. Since FAME eluted at the end of the chromatogram, it was possible to set the initial temperature at 130  $^{\circ}$ C. Thus, the bulk of the hydrocarbon matrix eluted rapidly from the column and the run time became shorter. The modulation time ( $P_M$ ) was tested in a range from 3 to 6 s and  $P_M = 6$  s was considered to be the optimum.

In this work, a GC  $\times$  GC–TOFMS system was used just as a first approach for separation and identification of FAME. Once the GC  $\times$  GC–TOFMS method was optimized, it was transferred to the GC  $\times$  GC–FID system for a routine work of determination and quantitation of FAME in kerosene. For a routine application, GC  $\times$  GC–TOFMS was considered too expensive and not advantageous over the GC–MS method. Although nowadays gas chromatography coupled with mass spectrometry detection has deconvolution tools that are able to automatically identify coeluted compounds, it has, nevertheless, been demonstrated that these tools can produce false positives and negatives, especially in complex samples [20]. For quantification FID is preferred because of its wide linear range and simple calibration procedure. Although it is assumed that FID response of hydrocarbons is not influenced by the chemical nature of compounds, actually the response depends on the number of unsaturations as well as the FAME carbon number [21]. Optimized chromatographic conditions are shown in Table 2. The modulation time is quite different in the two methods due to the different detectors employed. Initially, the same  $P_M$  (6 s) was employed in the GC  $\times$  GC–FID system. However, a worse separation in the second column was achieved and wrap-around was observed, may be due to atmospheric outlet pressure rather than vacuum outlet conditions with FID detector [22]. While wrap-around is not a problem so long as the peaks do not overlap in the chromatogram, it should be avoided whenever possible. For this reason, higher modulation times and flow rates were tried, and a  $P_M = 7$  s and a  $flow = 2$  mL min $^{-1}$ , were considered as the optimum. As shown in Fig. 2, a good separation of FAME from the kerosene matrix was achieved with the GC  $\times$  GC–FID and the individual C18 FAME species were completely separated.



## Determination of Trace Levels of Fatty Acid Methyl Esters in Aviation Fuel

**Fig. 2** Zoom in 2D colour plots of a standard solution of  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  of FAME in *n*-dodecane obtained by GC  $\times$  GC-TOFMS (a) and by GC  $\times$  GC-FID (c); a kerosene sample spiked with  $10 \text{ mg kg}^{-1}$  of biodiesel obtained by GC  $\times$  GC-TOFMS (b) and GC  $\times$  GC-FID (d)

Quantitation of FAME in Kerosene by GC  $\times$  GC-FID

Quantitation of FAME by GC  $\times$  GC-FID was based on the IP PM-YD/09 quantitation method. According to this method, it was necessary to prepare two calibration curves: for lower and upper concentration range. Moreover, calibration curves were forced through zero and intercept was not considered due to the fact that no peaks of FAME were detected in the blank. The calibration curve was selected depending on the concentration of individual FAME species in the samples.

The assignment of FAME was based on retention times of the standard mixture. For FAME quantitation, each sample was injected four times. Peak area was calculated in terms of the peak sum of all modulated peaks. The total FAME concentration was calculated by adding the concentration obtained for the six specified FAME species. Due to the difference between the sample and the *n*-dodecane density, a density correction factor should be applied to the concentrations calculated from the standard calibration. Table 3 lists the validation results obtained by GC  $\times$  GC-FID for each FAME species.

Comparison of the GC-MS and GC  $\times$  GC-FID Methods

Table 3 lists the GC-MS validation results obtained as described in the IP PM-DY/09 reference method. For the GC  $\times$  GC-FID experiment, all components in both calibration curves had determination coefficients ( $R^2$ ) greater

than 0.999. However, determination coefficients obtained by the GC-MS (SIM) experiment, were lower than those for GC  $\times$  GC-FID, especially in the low concentration range. As shown in Table 3, in the GC-MS (SIM) experiment, unsaturated FAME species such as C18:1, C18:2 or C18:3 had lower response factors than in the GC  $\times$  GC-FID experiment, therefore lower detection limits were achieved with the latter. As indicated in the IP PM-DY/09, two calibration curves were used for each FAME component. However, given the wide linear range of the FID detector, it should not be necessary to prepare two calibration curves in this analysis.

In order to compare both methods, spiked samples A-F (described in “Samples”) were analyzed and the results obtained by GC-MS (SIM) and GC  $\times$  GC-FID are shown in Table 4. Similar concentration and recovery results were obtained by both methods except for the lowest concentration level (sample B) as the GC-MS (SIM) method obtained a higher total FAME concentration than expected.

In addition, to evaluate the reliability of the developed method, ten real kerosene samples from Spanish multi-product pipelines (K1-K10) were collected. The results obtained by GC  $\times$  GC-FID and GC-MS (SIM) were compared (Table 5) and the equivalence of the two methods was established.

## Statistical Evaluation

In order to evaluate the precision and accuracy of the developed GC  $\times$  GC-FID method, its results were



**Table 3** Validation results for the GC–MS (SIM) and GC  $\times$  GC–FID developed method

	LOD (mg kg <sup>-1</sup> )	LOQ (mg kg <sup>-1</sup> )	Lower conc. range equation	$R^2$	Upper conc. range equation	$R^2$
GC–MS (SIM)						
C16:0	0.009	0.014	$y = (1.16 \pm 0.07) \times 10^6 x$	0.994	$y = (1.25 \pm 0.03) \times 10^6 x$	0.999
C17:0	0.008	0.013	$y = (1.14 \pm 0.07) \times 10^6 x$	0.993	$y = (1.16 \pm 0.03) \times 10^6 x$	0.999
C18:0	0.008	0.013	$y = (1.22 \pm 0.07) \times 10^6 x$	0.993	$y = (1.16 \pm 0.03) \times 10^6 x$	0.999
C18:1	0.017	0.026	$y = (6.0 \pm 0.3) \times 10^5 x$	0.993	$y = (6.4 \pm 0.1) \times 10^5 x$	0.999
C18:2	0.024	0.034	$y = (4.2 \pm 0.2) \times 10^5 x$	0.992	$y = (4.4 \pm 0.1) \times 10^5 x$	0.999
C18:3	0.074	0.086	$y = (1.3 \pm 0.1) \times 10^5 x$	0.992	$y = (1.3 \pm 0.1) \times 10^5 x$	0.998
GC $\times$ GC–FID						
C16:0	0.006	0.010	$y = (1.65 \pm 0.02) \times 10^7 x$	0.999	$y = (1.67 \pm 0.01) \times 10^7 x$	0.999
C17:0	0.006	0.010	$y = (1.64 \pm 0.03) \times 10^7 x$	0.999	$y = (1.65 \pm 0.01) \times 10^7 x$	0.999
C18:0	0.003	0.006	$y = (1.63 \pm 0.02) \times 10^7 x$	0.999	$y = (1.67 \pm 0.01) \times 10^7 x$	0.999
C18:1	0.003	0.006	$y = (1.66 \pm 0.03) \times 10^7 x$	0.999	$y = (1.64 \pm 0.02) \times 10^7 x$	0.999
C18:2	0.003	0.007	$y = (1.59 \pm 0.03) \times 10^7 x$	0.999	$y = (1.63 \pm 0.01) \times 10^7 x$	0.999
C18:3	0.004	0.007	$y = (1.24 \pm 0.02) \times 10^7 x$	0.999	$y = (1.26 \pm 0.01) \times 10^7 x$	0.999

LOD (limit of detection) and LOQ (limit of quantitation) were obtained considering 3 and 10 times, respectively, the SD of the S/N ratio, using 10 injection replicates of commercial kerosene

**Table 4** Total FAME and individual FAME species concentration obtained for six different samples with GC–MS (SIM) and GC  $\times$  GC–FID

	Sample A 5.40 (mg kg <sup>-1</sup> )	Sample B 0.54 (mg kg <sup>-1</sup> )	Sample C 50.28 (mg kg <sup>-1</sup> )	Sample D 100.56 (mg kg <sup>-1</sup> )	Sample E 3.24 (mg kg <sup>-1</sup> )	Sample F 25.14 (mg kg <sup>-1</sup> )
GC–MS (SIM)						
C16:0	1.12	0.18	9.99	19.45	0.65	5.20
C17:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:0	0.22	ND	2.14	4.17	0.14	1.04
C18:1	1.55	0.24	14.09	27.54	0.97	6.76
C18:2	2.23	0.26	20.44	40.05	1.31	9.79
C18:3	0.32	ND	3.05	5.89	0.20	1.46
Total	5.45	0.68	49.70	97.10	3.27	24.24
RSD	1.85	5.31	2.07	3.18	1.97	3.65
Recovery	100.9	125.9	98.8	96.55	100.9	96.42
GC $\times$ GC–FID						
C16:0	1.31	0.06	10.60	20.92	0.46	5.57
C17:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:0	0.30	ND	2.29	4.43	0.13	1.19
C18:1	1.57	0.24	15.33	29.69	1.04	7.03
C18:2	2.01	0.27	20.20	41.11	1.38	10.30
C18:3	0.34	ND	2.69	5.48	0.24	1.63
Total	5.53	0.57	51.10	101.63	3.25	25.72
RSD	0.66	0.77	0.58	0.35	0.94	0.55
Recovery	102.4	105.5	101.6	101.1	100.3	102.3

All concentrations are given in mg kg<sup>-1</sup>, relative standard deviations (RSD) and recovery are given in %

compared with the ones obtained by GC–MS (SIM), using the ANOVA.

The data set consists of six samples with different total FAME concentration levels (C1–C6) and two analytical

techniques (T1, GC–MS (SIM), and T2, GC  $\times$  GC–FID). The ANOVA analysis (Table 6) revealed that there is a statistical difference at 95 % level of confidence between the two methods at lower and upper concentration range,

## Determination of Trace Levels of Fatty Acid Methyl Esters in Aviation Fuel

**Table 5** Quantitation of FAME in ten different types of kerosene by GC–MS (SIM) and GC  $\times$  GC–FID

	GC–MS (SIM)	GC $\times$ GC–FID
Kerosene 1	0.9	0.8
Kerosene 2	<0.5	<0.5
Kerosene 3	<0.5	<0.5
Kerosene 4	4.3	4.2
Kerosene 5	<0.5	<0.5
Kerosene 6	1.5	1.7
Kerosene 7	<0.5	<0.5
Kerosene 8	<0.5	<0.5
Kerosene 9	<0.5	<0.5
Kerosene 10	1.3	1.3

**Table 6** The ANOVA test results

Sample <sup>a</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	<i>F</i>	<i>p</i>
B (0.54)	68.16	0.0002
E (3.24)	1.88	0.2193
A (5.40)	0.00	0.9575
F (25.14)	11.19	0.0155
C (50.28)	7.22	0.0362
D (100.56)	4.79	0.0712

Comparison of the obtained results by means of GC  $\times$  GC–FID and GC–MS (SIM) at 95 % level of confidence

<sup>a</sup> Concentration of total FAME in kerosene

as  $F > 4$  and  $p < 0.05$ , especially for sample B (0.54 mg kg<sup>-1</sup>). However, there is no statistical difference in concentrations ranging between 3 and 6 mg kg<sup>-1</sup> of total FAME in kerosene. Box and Whisker plots were made of the six concentration levels. These plots and the RSD values (Table 4) showed that for the six levels the precision of the proposed GC  $\times$  GC–FID method is higher than that with GC–MS (SIM).

### Concluding Remarks

The proposed GC  $\times$  GC–FID method allows quantitation of low FAME levels in kerosene. This method was compared with the one-dimensional GC–MS (SIM) reference method (IP PM-YD/09). The developed method was validated and, as ANOVA analysis demonstrated, the results obtained were significantly more precise than those obtained by the reference method. Using a two-dimensional separation, the FAME species did not coelute with hydrocarbon matrix. Therefore, despite the lack of selectivity of the FID, accurate identification of the target analytes was achieved and SIM was not necessary. Also, the GC  $\times$  GC–FID analysis proved to be faster than the GC–

MS analysis. However, the data processing may be more complex in GC  $\times$  GC than in 1D GC as the modulated peaks frequently need manual adjustments, which can increase the analysis time; therefore, in GC  $\times$  GC personnel are required to be more skilled. On the other hand, a FID detector requires simpler maintenance and it is considered more robust than an MS detector. Regarding the cost of the instrument, a GC  $\times$  GC–FID may be cheaper than a GC–MS, especially when a flow modulator is used as no additional consumables are required. In contrast, thermal modulation, due to the use of large amounts of liquid cryogen, raises the analysis cost. Therefore, the developed method can be recommended for the FAME analysis in kerosene when the GC  $\times$  GC–FID is available.

### References

- Ma F, Hanna MA (1999) Bioresour Technol 70:1–15
- Special Airworthiness information bulletin, 2009, NE-09-25R1
- Ministry of Defence, Defence Standard 91-91 (2008) 6: 1-30
- Civil Aviation Authority, IN-2012/116
- IP PM-DY/09, Determination of fatty acid methyl esters, derived from bio-diesel fuel, in aviation turbine fuel- GC-MS with selective ion monitoring/scan detection method
- IP 585/10, Determination of fatty acid methyl esters, derived from bio-diesel fuel, in aviation turbine fuel- GC-MS with selective ion monitoring/scan detection method
- Dallüge J, Vreuls RJJ, Beens J, Brinkman UATH (2003) J Chromatogr A 1000:69–108
- Schoenmakers PJ, Oomen JLMM, Blomberg J, Genuit W, Van Velzen G (2000) J Chromatogr A 892:29–46
- Zhu Shukui (2009) J Chromatogr A 1216:3312–3317
- Adahchour M, Beens J, Brinkman UATH (2008) J Chromatogr A 1186:67–108
- Tiyapongpattana W, Wilairat P, Marriott PJ (2008) J Sep Sci 31:2640–2649
- Frysinger GS, Gaines RB (2000) J High Res Chromatogr 23(3):197–201
- Seeley JV, Seeley SK, Libby EK, McCurry JD (2007) J Chromatogr Sci 45:650–656
- Seeley JV, Bates CT, McCurry JD, Seeley SK (2012) J Chromatogr A 1226:103–109
- Dimandja JMD, Clouden GC, Colón I, Focant JF, Cabey WV, Parry RC (2003) J Chromatogr A 1019:261–272
- Vendeuvre C, Ruiz-Guerrero R, Bertoncini F, Duval L, Thiébaud D, Hennion MC (2005) J Chromatogr A 1086:21–28
- Adam F, Bertoncini F, Coupard V, Charon N, Thiébaud D, Espinat D, Hennion MC (2008) J Chromatogr A 1186:236–244
- Dallüge J, Vreuls RJJ, Beens J, Brinkman UATH (2002) J Sep Sci 25:201–214
- Marriott PJ, Shellie R (2002) Trends Anal Chem 21[9 + 10]:573–583
- Hongmei L, Warwick BD, Hailin S, Douglas BK, Yizeng L (2008) Trends Anal Chem 27:215–227
- Dodds ED, McCoy MR, Rea LD, Kennisha JM (2005) Lipids 40:419–428
- Shellie R, Marriott P, Morrison P, Mondello L (2004) J Sep Sci 27:503–512



Contents lists available at ScienceDirect

Fuel

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/fuel](http://www.elsevier.com/locate/fuel)

## PIONA analysis of kerosene by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time of flight mass spectrometry

K. Lissitsyna<sup>b</sup>, S. Huertas<sup>a,\*</sup>, L.C. Quintero<sup>a</sup>, L.M. Polo<sup>b</sup><sup>a</sup> Centro Tecnológico de Repsol, Carretera de Extremadura, NV, km 18, 28935 Móstoles, Madrid, Spain<sup>b</sup> Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Química Analítica, Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain

### HIGHLIGHTS

- It was developed a PIONA analysis for kerosene samples by GC × GC–TOFMS.
- It provides a hydrocarbon class and carbon number distribution.
- Identification was performed by scripts written in VBScript language.
- Semiquantification was based on the area of characteristic fragments and molecular ions.
- Results were compared with reference methods and they closely resemble.

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 7 August 2012

Received in revised form 11 July 2013

Accepted 18 July 2013

Available online 3 August 2013

#### Keywords:

Comprehensive two-dimensional gas chromatography

GC × GC

Time of flight mass spectrometry

TOFMS

Kerosene

### ABSTRACT

A method to determine n-paraffins, iso-paraffins, olefins–naphthenes and aromatics (PIO-NA) in kerosene samples by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time of flight mass spectrometry (GC × GC–TOFMS) is reported. This method is based on a correct identification of kerosene compounds by *Scripting* (Visual Basic programming) which establishes rules for filtering spectral data to locate compounds having defined spectral properties of a particular compound class. This tool implies a significant reduction of analysis time for very complex samples. Semiquantification of compound families is performed by adding the areas of the characteristic mass fragments of each compound class and their respective molecular ions. The kerosene samples for analysis were produced by different conversion processes such as catalytic reforming, alkylation, catalytic cracking and hydroprocessing depending on the kerosene distillation process. To assure the reliability of the method, samples were also analyzed by reference methods and good concordances were found between the results obtained.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Detailed hydrocarbon analysis of petrochemical samples has great importance in the petrochemical industry. It allows a correct characterization of samples to predict their behavior in further processing and applications. There are numerous methods able to characterize petrochemical samples providing detailed information. In particular, the ASTM D2425 [1] provides the content (expressed in mass percentage) of eleven hydrocarbon families in middle distillates. According to this method, mass fragments and molecular ions of a hydrocarbon family are summed and used to calculate concentrations from matrix coefficients which depend on carbon number. However, samples must be previously separated into saturate and aromatic fractions by test method D2549 [2], and then each fraction is analyzed by mass spectrometry.

The so-called PIONA analyzers are based on the use of a standardized gas-chromatography technique to determine n-paraffins, iso-paraffins, olefins, naphthenes and aromatics in gasoline and petroleum naphtha containing hydrocarbons having boiling points between –42 and 216 °C [3]; its operation principle is based on a combination of traps for hydrocarbons with a similar functional group, separating columns and a hydrogenator for olefins. However, the main disadvantage is that this PIONA analysis technique is limited to hydrocarbons with boiling points below 200 °C, corresponding to compounds containing a carbon number around C<sub>11</sub>. More recently, GC × GC has been applied to the analysis of heavier cuts (middle distillates) [4,5], especially due to its high peak capacity, resolution power and high sensitivity which are obtained by combining two chromatographic columns in contrast to one-dimensional gas chromatography [6,7]. GC × GC analysis of petrochemical products is normally performed using a flame ionization detector (FID) or a time of flight mass spectrometer (TOFMS) [8–10]. As petrochemical products consist of thousands of

\* Corresponding author. Tel.: +34 91 753 76 33; fax: +34 91 753 86 13.  
E-mail address: [shuertasdl@repsol.com](mailto:shuertasdl@repsol.com) (S. Huertas).

compounds, FID is considered to be the most suitable detector for routine and quantitative hydrocarbon analysis because it is assumed that all compounds have similar response factors when they belong to the same compound class. Commonly, TOFMS is used when structural information is required to enable unambiguous identification, since it offers higher data acquisition speed, selectivity and deconvolution tools [11]. However, for quantitative analysis, TOFMS is not suitable because it is necessary to determine the response factor of each compound and this is not feasible due to the lack of standards. On the other hand, FID has lower sensitivity for heteroatom compounds in petrochemical products than TOFMS making the analysis difficult at trace concentration levels [12,13]; hence, in order to obtain a detailed analysis it is usually necessary to analyze the sample twice by GC  $\times$  GC (using both FID and TOFMS). This is time-consuming and, moreover, the lack of selectivity of FID leads to an incorrect compound identification, especially when samples are very complex. In particular, kerosene samples contain a large number of aliphatic compounds which make a good chromatographic separation between paraffins and naphthenes difficult to achieve. Recently, Adam et al. [14] have implemented a chiral permethylated cyclodextrin column as a second dimension column in order to improve selectivity between naphthenes and paraffins. However, besides the well known limitations of chiral columns, such as their high cost and low maximum operating temperature (200 °C) [15], the ability of these columns to discriminate naphthenes from paraffins is limited to compounds up to 15 carbon atoms. Therefore, detectors that offer structural identification are very necessary in petrochemical analysis in order to achieve correct compound assignment. Recent studies [16,17] have used scripts in order to locate and identify sample compounds. Scripts are functions, written in VB language, that allow identification of compounds according to their mass spectra; this greatly facilitates compound detection in complex samples.

Owing to the high resolution power, enhanced sensitivity and chemical identification of GC  $\times$  GC-TOFMS, this paper deals with the development of a method for a detailed and a semiquantitative analysis of kerosene samples by GC  $\times$  GC-TOFMS. In this method, twelve hydrocarbon types were analyzed and semiquantified. Identification was performed by scripts written in VBScript language; semiquantification was based on area addition of selected characteristic fragments and molecular ions of each compound class. Finally, the results obtained were compared with reference methods.

## 2. Experimental

### 2.1. GC $\times$ GC-TOFMS setup

The GC  $\times$  GC-time of flight mass spectrometry (TOFMS) system consists of a 7890 GC (Agilent Technologies), with a split-splitless

injector (model 7683 Autosampler Injector) fitted with a N<sub>2</sub> quad jet thermal modulator (LECO) and a Pegasus IV time of flight mass spectrometer (LECO, St. Joseph, MI, USA). Columns set consisted of a first dimension non-polar column (DB-5, 30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m, 5% phenyldimethylpolysiloxane, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) and a second dimension medium polar column (ZB-50, 2 m  $\times$  0.10 mm  $\times$  0.10  $\mu$ m, 50% diphenyldimethylpolysiloxane, Phenomenex, USA). Chromatographic conditions are listed in Table 1. Data acquisition was performed by Leco-ChromaTOF software (v.4.21). Compound identification was performed by using the *Classification* and *Scripting* tools, available in the Leco-ChromaTOF software (v.4.21) and by comparison of spectra with the NIST 2.0 (2008) library.

### 2.2. Samples

Kerosene samples were supplied by Repsol S.A (K1-K8). They had different hydrocarbon composition due to different processes they had undergone. Samples K1, K4 and K7 are products from a mild hydrocracking; samples K3 and K5 are distillation products; samples K6 and K8 were hydrocracked and K2 was a blend of distillate and a vegetable oil.

### 2.3. Determination of PIONA in kerosene by GC $\times$ GC-TOF-MS

A 0.5  $\mu$ L kerosene sample volume was injected directly in the chromatograph. The VBScript language software was used for compound identification using the mass fragments and molecular ions specified in Table 2; semiquantification was made by adding the ion areas of each compound.

### 2.4. Reference methods

#### 2.4.1. Aromatic content determination

Determination of the different aromatic hydrocarbon types in middle distillates was carried out following the IP 548/06 (ASTM D6591) [18]. An Agilent 1100 series HPLC system equipped with a refraction index (RI) detector was used. The LC column was a 250 mm  $\times$  4.6 mm i.d Zorbax NH<sub>2</sub> packed with 5  $\mu$ m particles of amino-bonded silica (Agilent Technologies, USA).

#### 2.4.2. n-Paraffin content determination

The n-paraffin content in kerosene was determined using a GC-FID system according to an internal validated method used in Repsol S.A. laboratory. A non polar column (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m DB-1, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) was used for the analysis.

## 3. Results

### 3.1. Optimization of the GC $\times$ GC-TOFMS method

Four different 2D columns (Table 3) having different polarity were tested in order to improve the separation of saturated compounds since kerosene normally has a relatively high aliphatic content as well as a low aromatic content and it does not contain significant amounts of heteroatom species. Separation between aromatics and saturates was not a problem since it can be easily achieved employing both normal and reversed column combinations [8].

Polarity of the tested stationary phases ranged from low polar (ZB-1701), medium polar (BPX-50 and ZB-50) to polar (IL-59). The length, the internal diameter (1 m and 0.1 mm, respectively) and the 1D column (DB-5, 30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m) were kept constant for the four 2D columns. Chromatographic conditions were the same for the four sets and they are indicated in Table 1. Due to the complexity of the samples, it was necessary to work with low

**Table 1**  
Chromatographic and MS conditions.

GC $\times$ GC	
1D Column	DB-1 (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 $\mu$ m)
2D Column	ZB-50 (2 m $\times$ 0.10 mm $\times$ 0.10 $\mu$ m)
Injection	0.5 $\mu$ L split 1:70 at 250 °C
Flow rate of He Carrier gas	Constant flow: 1.5 mL min <sup>-1</sup>
First oven T program	60–290 °C at 2 °C min <sup>-1</sup>
Second oven T program	65–295 °C at 2 °C min <sup>-1</sup>
Modulator T	15 °C above the first oven T
Modulation period	8 s, hot pulse 0.8 s
TOFMS	
Source T	250 °C
Transfer line T	225 °C
El ionization	–70 eV
Acquisition frequency	150 Hz

**Table 2**

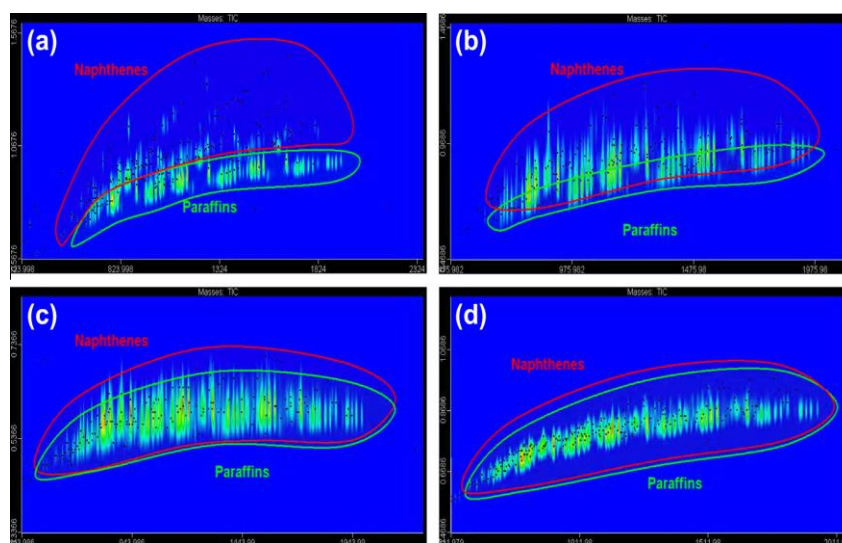
Mass fragments and molecular ions used for semi-quantitation.

Class compound	Ions
n-Paraffins	43 + 57 + 71 + 99 + 113 + 127 + 141 + 155 + 169
Iso-paraffins	43 + 57 + 71 + 99 + 113 + 127 + 141 + 155 + 169
Mononaphthenes/olefins	69 + 67 + 83 + 97 + 111 + 125 + 139 + 153 + 167
Dinaphthenes/olefins	81 + 95 + 109 + 123 + 137 + 151 + 165 + 179 + 193
Trinaphthenes/olefins	67 + 79 + 93 + 107 + 121 + 135 + 149 + 163 + 177 + 191 + 205 + 219 + 233 + 247
Alkylbenzenes	91 + 92 + 10 + 106 + 119 + 120 + 133 + 134 + 147 + 148 + 161 + 162 + 175 + 176
Benzonaphthenes	103 + 104 + 117 + 118 + 131 + 132 + 145 + 146 + 159 + 160 + 173 + 174 + 187 + 188
Dinaphthobenzenes	115 + 116 + 129 + 130 + 143 + 144 + 157 + 158 + 171 + 172 + 185 + 186
Naphthalenes	141 + 142 + 155 + 156 + 169 + 170 + 183 + 184 + 197 + 198 + 211 + 212 + 225 + 226 + 239 + 240
Acenaphthenes, biphenyls	153 + 154 + 167 + 168 + 181 + 182 + 195 + 196 + 209 + 210 + 223 + 224 + 237 + 238 + 251 + 252
Acenaphthenes, fluorenes	151 + 152 + 165 + 166 + 179 + 180 + 193 + 194 + 207 + 208 + 221 + 222 + 235 + 236
Phenanthrenes	177 + 178 + 191 + 192 + 205 + 206 + 219 + 220 + 233 + 234 + 247 + 248

**Table 3**

Column sets tested in GC × GC–TOF–MS. 1D column DB-1 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) was maintained in all tests.

Set	2D column	Characteristics
1	ZB-50 (1 m × 0.10 mm × 0.10 μm)	50% Diphenyldimethylpolysiloxane, Phenomenex, USA
2	BPX-50 (1 m × 0.10 mm × 0.08 μm)	50% Phenylmethylpolysiloxane, SGE, Courtaboeuf, France
3	IL-59 (1 m × 0.10 mm × 0.08 μm)	1,12-di(triisopropylphosphonium)dodecane bis(trifluoromethane-sulfonyl)imide, Supelco, Bellefonte, USA
4	ZB-1701 (1 m × 0.10 mm × 0.10 μm)	14% Cyanopropylphenyl–84% dimethylpolysiloxane, Phenomenex, USA

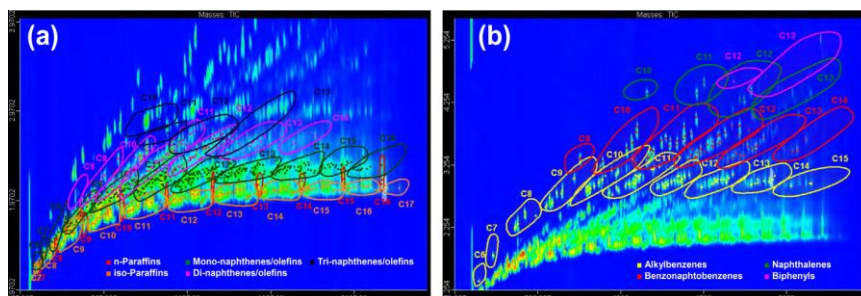
**Fig. 1.** Zoomed view of four 2D color plots of a kerosene sample obtained with the tested column sets: 1D column DB-1; 2D column: (a) ZB-50, (b) BPX-50, (c) IL-59 and (d) ZB-1701.

temperature ramps, at 2 °C min<sup>−1</sup>. Furthermore, since a small difference between the temperatures improved compound separation in 2D, the temperature in the second oven was set 5 °C higher than in the first oven. For this reason, in order to prevent wrap-around, it was necessary to establish a high modulation time, 8 s.

As shown in Fig. 1, the separation between paraffins and naphthenes with ZB-1701 and IL-59 columns was very poor; for that reason, they were discarded. Regarding the medium polar 2D columns, the

ZB-50 column gave rise to better separations than the BPX-50, because of the greater peak spreading of saturated compounds on the chromatographic space. Although the BPX-50 column is usually the preferred 2D one for petrochemical samples [19], the ZB-50 was found to be more appropriate as it provided the best separation of individual components as well as of the different aliphatic classes. Even though the maximum operating temperature of the BPX-50 column (370 °C) is higher than that of the ZB-50 (340 °C), both





**Fig. 2.** 2D color plot of a kerosene sample. Elution zones of saturates (a) and aromatics (b) are plotted according to the carbon number and class compound. The number inside each zone indicates the carbon atoms number of the alkyl chain or alkyl groups.

temperatures are high enough to elute all compounds present in kerosene samples and even in heavier distillates; therefore, set 1 was chosen among the other studied column combinations.

Once the stationary phase of the 2D column had been selected, longer columns were tested (2 and 3 m). The 2 m length gave greater peak resolution among the aliphatic compounds than the 1 m length. However, better separations were not observed using a 3 m column and, in addition, it was necessary to increase the modulation period to prevent wrap-around effects.

**Table 4**

Validation results of the in-laboratory method for determination of n-paraffins in petroleum products. Determination coefficient has been obtained from a set of standards covering the concentration range from 5% to 25% of n-paraffins. LOD and LOQ were obtained considering 3 and 10 times, respectively, the intercept SD divided by the slope.

Equation	R <sup>2</sup>	RSD (%)	LOD (%)	LOQ (%)	Recovery (%)
$y = 37557x - 69023$	0.999	1.3	1.6	4.9	90

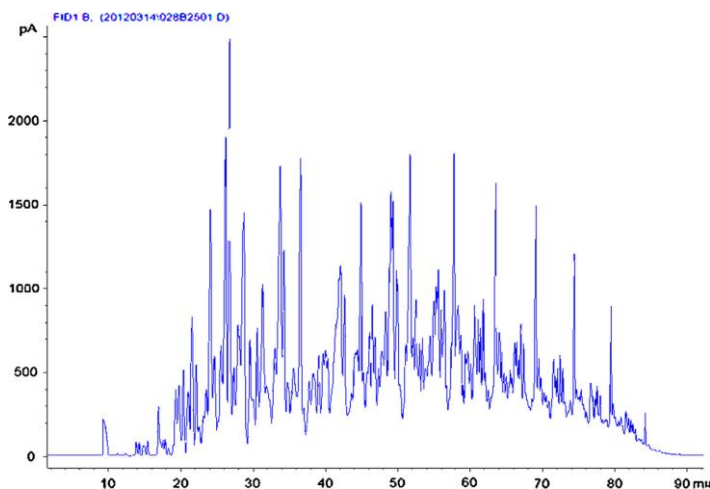
### 3.2. Qualitative analysis of kerosene samples

In spite of improvements achieved using the ZB-50 column compared to the BPX-50, it was not possible to get the desired separation as several class compounds still overlapped. In fact, coelution of naphthenes with paraffins and aromatics with polycyclic naphthenes still remained. This could be relevant when a non-specific detector is used (e.g. FID) because class compound quantitation would not be reliable.

In order to facilitate compound identification, the *Classification and Scripting* tools were used. Classification was made according to carbon number of each compound class and according to functional group, i.e. n-paraffins, iso-paraffins, mono-, di- and tri-naphthenes, mono-aromatics, monocyclic-aromatics, dicyclic-aromatics, naphthalenes, biphenyls, etc.

With the scripting tool users create their own scripts in order to identify their target compounds. The scripts are written in VBasic

language. They consist of a series of functions where is defined the specific parameters for compound identification related to their mass spectra. That is, in this functions are defined characteristics ions, fragmentations, isotope peaks, etc., of a compound or compound class. This feature allows chromatographic peak matching to a mass spectral pattern, described in the script function, to be labeled as belonging to a specific user-defined class. Thus, scripts assigned compounds to the correct class, even when the compounds were coeluted. For this method, eleven scripts were designed for each studied family; consequently, each script was used to identify each family. The written scripts were validated, first analyzing some standards and then some well-known samples. The identified compounds by scripts were checked studying their mass spectra and comparing them with the NIST 2.0 (2008) library. Due to the close similarity between n- and iso-paraffin mass spectra, the same script was used for both class compounds.



**Fig. 3.** Chromatogram of a kerosene sample obtained by a GC-FID system.

**Table 5**  
Results obtained by GC × GC–TOFMS and reference methods of eight real kerosene samples: %, m/m.

	K 1		K 2		K 3		K 4		K 5		K 6		K 7		K 8	
	GC × GC– TOFMS	Ref. method	GC × GC– TOFMS	Ref. method	GC × GC– TOFMS	Ref. method	GC × GC– TOFMS	Ref. method	GC × GC– TOFMS	Ref. method	GC × GC– TOFMS	Ref. method	GC × GC– TOFMS	Ref. method	GC × GC– TOFMS	Ref. method
Saturates	76.44	78.12	94.09	95.95	78.46	81.14	84.67	87.31	83.54	82.67	96.26	96.6	72.99	72.07	88.99	87.95
Paraffins	41.93	86.28	59.44	59.44	21.83	23.10	5.24	5.05	15.94	15.94	3.48	4.51	5.38	5.15	7.38	7.20
n-Paraffins	5.84	5.42	54.23	53.49	37.61	40.68	38.75	38.75	33.20	33.20	68.22	68.22	31.95	31.95	52.22	52.22
iso-Paraffins	36.09	32.05	7.81	7.79	18.56	18.56	29.39	29.39	25.70	25.70	42.73	42.73	23.27	23.27	36.07	36.07
Naphthenes/olefins	34.51	24.41	7.79	7.79	0.46	0.46	9.03	9.03	7.50	7.50	25.48	25.48	8.68	8.68	15.72	15.72
Mono- di- tri-	9.77	0.33	0.02	0.00	0.00	0.00	0.33	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.44	0.44
Aromatics	23.56	21.88	5.91	4.05	21.54	18.86	15.33	12.69	16.46	17.33	3.74	3.40	27.01	27.93	11.01	12.05
Monoaromatics	22.86	21.12	5.68	3.32	21.24	18.27	15.25	12.50	16.46	17.16	3.74	3.30	25.74	26.63	10.88	11.80
Alkylbenzenes	15.16	4.90	19.77	19.77	1.47	1.47	3.84	3.84	3.23	3.23	0.76	0.76	16.47	16.47	8.34	8.34
Benzonaphthenes	7.70	0.78	0.78	0.78	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.54	2.54
Dinaphthobenzenes	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Diaromatics	0.70	0.76	0.23	0.73	0.30	0.59	0.08	0.19	0.00	0.17	0.00	0.10	1.26	1.30	0.13	0.25
Naphthalenes	0.67	0.23	0.23	0.30	0.30	0.08	0.08	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	1.25	1.25	0.00	0.00
Biphenyls	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
Fluorenes	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Triaromatics	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Moreover, for the same reason, naphthenes and olefins were also identified with the same script.

This feature was able to be implemented because it relies on the use of the mass spectra of each compound obtained by the TOFMS detector; obviously, compound identification was much more reliable than when made by the FID detector. Moreover, this procedure was not time-consuming as it was performed automatically. Color plots of a kerosene sample processed with the Classification and Scripting tools are shown in Fig. 2.

A typical chromatogram of a middle distillate obtained by 1D chromatography (Fig. 3) presented a large envelop of unresolved compounds close to the baseline. This envelope contains a complex mixture of iso-paraffins, naphthenes and aromatics. Moreover, compounds which are partially resolved above the envelope belongs mostly to n-paraffins [20]. These n-paraffins can be clearly distinguished when the petrochemical sample has not been hydrocracked. In hydrocracked samples the n-paraffin content decreases considerably and the n-paraffins are confused with the large envelop of unresolved compounds; therefore, n-paraffin identification could be inaccurate. However, owing to the two dimensional separation in GC × GC, 2D chromatograms present clusters due to an ordered elution of the families based on their volatility and polarity. In fact, n-paraffins can be distinguished from iso-paraffins considering the roof-tile effect, where the linear paraffins are located rightmost in the tile while the branched paraffins are located on the left side since an increased branching leads to reduced compound polarity. Nevertheless, the roof-tile effect is not sufficient to correctly assign hydrocracked n-paraffins by GC × GC–FID because their low concentration leads them to be easily confused with iso-paraffins. However, this identification is more easily achieved when samples are analyzed by GC × GC–TOFMS, because although the mass spectra of n-paraffins and iso-paraffins have a great similarity, the molecular ion of n-paraffins presents much higher intensity than the iso-paraffin ion. Therefore, using ion-extracted plots at  $m/z$  86, 100, 114, 128, etc., which are the paraffin molecular ions, n-paraffins are rapidly located. Consequently, in this method, the distinction between n-paraffins and iso-paraffins was made mainly through their molecular ions although the roof-tile effect was also taken into account.

Regarding coelution of polycyclic naphthenes (tri and tetra-naphthenes) and monoaromatics [21], their identification was not a problem using the scripts since these compounds presented different mass spectral patterns.

Nevertheless, olefins and naphthenes could not be distinguished because these two families coeluted and the scripts were not able to be applied because fragmentation of these compounds produces the same ions. Some recent studies have coupled an additional dimension to the GC × GC system in order to overcome the lack of selectivity between naphthenes and olefins. Mao et al. [22] used HPLC as a first dimension to fractionate petrochemical samples into saturated and unsaturated fractions; while Adam et al. [23] have hyphenated the supercritical fluid chromatography (SFC) with GC × GC; both methods used a silver modified column for fractionation.

### 3.3. Semiquantitative analysis of kerosene samples

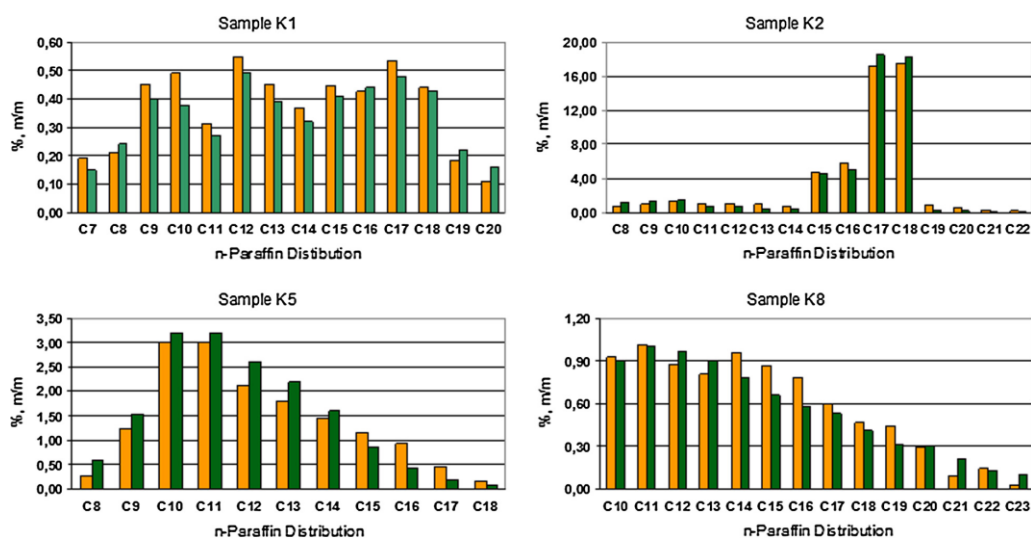
Once identification by scripts was made, semiquantification of the compounds was performed calculating the area of each compound. Total areas were calculated by adding mass fragments and their respective molecular ion areas. These ions were chosen according to the characteristic fragmentation of each family and their number was specific for each compound class; the mass fragments used in the semiquantitative analysis are listed in Table 2.

The Classification tool automatically calculated total area of the identified compounds by scripts. The automatic integration of the

**Table 6**

Hydrocarbon group type distribution taking into account the carbon number of the kerosene sample K1. Results are given in % (m/m).

	C6	C7	C8	C9	C10	C11	C12	C13	C14	C15	C16	C17	C18	Total
Paraffins	<b>0.00</b>	<b>0.41</b>	<b>0.58</b>	<b>2.21</b>	<b>4.79</b>	<b>6.09</b>	<b>7.52</b>	<b>5.93</b>	<b>6.03</b>	<b>6.21</b>	<b>2.16</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>41.93</b>
n-Paraffin	0.00	0.19	0.19	0.49	0.70	0.75	1.15	0.87	0.89	0.57	0.05	0.00	0.00	5.84
iso-Paraffin	0.00	0.23	0.39	1.72	4.09	5.33	6.37	5.06	5.14	5.63	2.11	0.00	0.00	36.09
Naphthenes/olefins	<b>0.00</b>	<b>0.17</b>	<b>0.63</b>	<b>2.38</b>	<b>5.83</b>	<b>6.93</b>	<b>7.40</b>	<b>4.49</b>	<b>3.78</b>	<b>1.67</b>	<b>0.74</b>	<b>0.48</b>	<b>0.00</b>	<b>34.52</b>
mono-	0.00	0.17	0.63	1.96	4.66	3.77	4.07	3.09	3.61	1.55	0.74	0.15	0.00	24.41
di-			0.00	0.41	1.17	3.16	3.33	1.40	0.18	0.12	0.00	0.00	0.00	9.77
tri-					0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	0.33
Monoaromatics	<b>0.00</b>	<b>0.09</b>	<b>0.61</b>	<b>1.78</b>	<b>3.78</b>	<b>4.00</b>	<b>6.47</b>	<b>3.81</b>	<b>1.98</b>	<b>0.35</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>22.86</b>
Alkylbenzene	0.00	0.09	0.61	1.56	2.72	2.19	3.00	2.91	1.74	0.35	0.00	0.00	0.00	15.16
Naphthalene	0.00	0.00	0.00	0.22	1.06	1.81	3.48	0.90	0.24	0.00	0.00	0.00	0.00	7.70
Dinaphthalene	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Diaromatics					<b>0.09</b>	<b>0.25</b>	<b>0.30</b>	<b>0.06</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.70</b>
Naphthalene					0.09	0.25	0.29	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.67
Biphenyl							0.01	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
Fluorene								0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Triaromatics									<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>
Total	<b>0.00</b>	<b>0.68</b>	<b>1.82</b>	<b>6.36</b>	<b>14.49</b>	<b>17.26</b>	<b>21.69</b>	<b>14.29</b>	<b>11.79</b>	<b>8.22</b>	<b>2.90</b>	<b>0.48</b>	<b>0.00</b>	<b>100.00</b>

**Fig. 4.** n-Paraffin distribution given in % (m/m) obtained from middle distillate samples. Green bars correspond to GC × GC-TOFMS while yellow ones correspond to GC-FID. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

modulated peaks was consistent with peak shape for most compounds except for highly concentrated ones such as n-paraffins; in these cases, a manual integration was necessary.

Several kerosene samples were analyzed and results are shown in Table 5. These samples were produced by different conversion processes (see Section 2.2), therefore they differ in the content of compound families. As shown in Table 5, the n-paraffins and aromatics values for the samples K3 and K5 were typical for a distillate. On the other hand, samples K6 and K8 presented low n-paraffin and aromatic content, and high values for naphthenes, demonstrating that the samples were hydrocracked. Also the samples K1, K4 and K7 presented low n-paraffin content. However since the other values were normal, indicated that the samples were partially hydrocracked, through a process called mild-hydrocracking. Finally, sample K2 consisted practically of n- and iso-paraffins because it was blended with a vegetable oil in order to increase saturate content.

Due to the large amount of compounds, which were quantified in this method, it was not possible to establish linearity ranges or limit detections. But analyzing a kerosene sample 5 times was determined the precision of the method. An average RSD value for the eleven families less than 6% was obtained. Therefore in order to demonstrate the trueness of the results, different compound classes of kerosene samples were also quantified using reference methods. The IP 548/06 method was used to determine the aromatic hydrocarbon types in middle distillates and the saturates-aromatics balance by HPLC with refractive index detection. The n-paraffin content was determined by an in-house GC-FID method. This method was based on a Technical Report CEN/TR 15522-2 [24]. In the technical report a method for n-paraffin determination in petroleum products is described. The GC-FID method was validated and results are shown in Table 4.

In Table 5, semiquantitative results obtained by the developed method and by reference methods are shown; a fairly good



agreement was found between saturated and aromatic content obtained from both methods. Concerning saturated compounds, paraffin contents were the most similar while others had slight variations. In addition, since olefins and naphthenes could not be distinguished (see Section 3.2), a sum of those class compounds was reported and included in the saturates content. When olefins are needed, its content could be obtained by the bromine number method [25] or FIA analysis [26].

Regarding aromatic compounds, within each type it was possible to identify and semiquantify aromatics such as alkylbenzenes, benzonaphthenes, dinaphthobenzenes, naphthalenes or biphenyls. Total sum of the individual aromatic groups closely resembles the quantitative value obtained by the IP 548/06 method. Diaromatic compounds presented a very low content in most cases, while triaromatics were not detected, which is consistent with the sample type analyzed since they normally presented higher content in heavier distillates. In any case, it must be taken into account that sulfur, nitrogen and oxygen compounds may interfered in the determination of the aromatic content by IP 548/06. According to the IP method, these compounds eluted with aromatic compounds, consequently, they were quantified together. For this reason IP method provided higher values than the developed method. The advantage of the proposed method compared to the reference method (IP 548/06) is that it provided more detailed information about the type of aromatic compounds.

A similar compound class distribution to that supplied by the developed method is provided by the ASTM 2425; however, this reference method does not distinguish between n-paraffins and iso-paraffins and does not provide carbon number distributions (see Table 6). n-Paraffin distribution is the most used because of the high n-paraffin content in petrochemical samples and it is usually obtained by GC–FID method. This distribution is very useful because it characterizes petroleum fractions and products since it allows a quick determination of their boiling range distribution; to monitor process and it also determines whether the sample is a mixture of different fuel cuts. Consequently, the n-paraffin distribution of some kerosene samples obtained by GC × GC–TOFMS and GC–FID were compared. As shown in Fig. 4, similar distributions were obtained by both methods; therefore this demonstrated the reliability of the proposed method.

#### 4. Conclusion

The developed GC × GC–TOFMS method allowed a detailed identification and semiquantitative analysis of kerosene samples. It enabled a more accurate identification than the established GC × GC–FID method because the identification was made not only by retention times but also by mass spectra. Identification and classification of the thousands of compounds contained in petrochemical samples were performed rapidly and reliably due to the *Classification* and *Scripting* tools. These tools made it possible to distinguish the mononaphthene, dinaphthene and aromatic families. Furthermore, aromatics such as alkylbenzenes, benzonaphthenes, dinaphthobenzenes, naphthalenes or biphenyls were able to be

identified and semiquantified. Therefore, it can be concluded that scripts may be a useful tool to filter and classify compounds present in complex samples. In addition, although the semiquantitative results of the families were achieved using a TOFMS detector, the results were quite similar to those obtained by reference methods. Consequently, the proposed method by GC × GC–TOFMS could be a good approach to achieve a PIONA analysis, at least for kerosene samples. Moreover, this method could prove to be very useful in the petroleum industry and it could be implemented to analyze other middle distillates.

#### Appendix A. Supplementary material

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2013.07.077>.

#### References

- [1] ASTM D2425 Standard test method for hydrocarbon types in middle distillates by Mass spectrometry.
- [2] ASTM D2549 Test method for separation of representative aromatics and nonaromatics fractions of high-boiling oils by elution chromatography.
- [3] Van Arkel P, Beens J, Spaas H, Grutterink D, Verbeek R. *J Chromatogr Sci* 1987;25:141.
- [4] Beens J, Blomberg J, Schoenmakers P. *J High Resol Chromatogr* 2000;23:182.
- [5] Seeley JV, Bates CT, McCurry JD, Seeley SK. *J Chromatogr A* 2012;1226:103.
- [6] Adam F, Bertoncini F, Brodusch N, Durand E, Thiebaut D, Espinat D, et al. *J Chromatogr A* 2007;1147:55.
- [7] Vendevure C, Bertoncini F, Dural L, Duplan JL, Thiebaut D, Hennion MC. *J Chromatogr A* 2004;1056:155.
- [8] Vendevure C, Ruiz-Guerrero R, Bertoncini F, Duval L, Thiebaut D, Hennion MC. *J Chromatogr A* 2005;1086:21–8.
- [9] van der Westhuizen A, Ajama M, Coninga P, De Beens J, de Villiers A, Sandra P. *J Chromatogr A* 2011;1218:4478.
- [10] Van De Weghe H, Vanermen G, Gemoets J, Lookman R, Bertels D. *J Chromatogr A* 2006;1137:91.
- [11] Dallüge J, Vreuls RJJ, Beens J, Brinkman UATH. *J Sep Sci* 2002;25:201.
- [12] Briker Y, Ring Z, Iacchelli A, McLean N. *Fuel* 2003;82:1621.
- [13] Cheng X, Zhao T, Fu X, Hu Z. *Fuel Process Technol* 2004;85:1463.
- [14] Adam F, Vendevure C, Bertoncini F, Thiebaut D, Espinat D, Hennion MC. *J Chromatogr A* 2008;1178:171.
- [15] Beesley T. *LCCG North, America*, 29/7; 2011.
- [16] De Vos J, Dixon R, Vermeulen G, Gorst-Allman P, Cochran J, Rohwer E, et al. *Chemosphere* 2011;82:1230.
- [17] Vogt L, Gröger T, Zimmermann R. *J Chromatogr A* 2007;1150:2.
- [18] IP 548/06. Determination of aromatic hydrocarbon types in middle distillates – high performance liquid chromatography method with refractive index detection.
- [19] Adahchour M, Beens J, Brinkman UATH. *J Chromatogr A* 2008;1186:67–108.
- [20] Kaplan IR, Galperin Y, Lu S-T, Lee R-P. *Organ Geochem* 1997;27:289–317.
- [21] Edam R, Blomberg J, Janssen HG, Schoenmakers PJ. *J Chromatogr A* 2005;1086:12–20.
- [22] Mao D, Lookman R, Van De Weghe H, Van Look D, Vanermen G, De Brucker N, et al. *J Chromatogr A* 2009;1216:1524.
- [23] Adam F, Thiebaut D, Bertoncini F, Coutiade M, Hennion MC. *J Chromatogr A* 2010;1217:1386.
- [24] CEN/TR 15522-2. Oil spill identification–waterborne petroleum and petroleum products – Part 2: analytical methodology and interpretation of results.
- [25] ASTM D1159. Standard test method for bromine numbers of petroleum distillates and commercial aliphatic olefins by electrometric titration.
- [26] ASTM D1319-10. Standard test method for hydrocarbon types in liquid petroleum products by fluorescent indicator adsorption.



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Fuel

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/fuel](http://www.elsevier.com/locate/fuel)

## Novel simple method for quantitation of nitrogen compounds in middle distillates using solid phase extraction and comprehensive two-dimensional gas chromatography

K. Lissitsyna<sup>b</sup>, S. Huertas<sup>a,\*</sup>, L.C. Quintero<sup>a</sup>, L.M. Polo<sup>b</sup><sup>a</sup> Centro Tecnológico de Repsol, Carretera de Extremadura, NV, km 18, 28931 Móstoles, Madrid, Spain<sup>b</sup> Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Química Analítica, Avda. Complutense s/n, 28040 Madrid, Spain

### HIGHLIGHTS

- Identification and quantitation of N-compounds in middle distillates is achieved.
- The method is based on SPE fractionation followed by GC × GC-NCD.
- The fractionation avoids the overlapping between basic N-compounds.
- Results were compared with ASTM-4629 reference method and they closely resemble.
- The method provides a distribution of organic N-compounds in middle distillates.

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 9 January 2012

Received in revised form 28 August 2012

Accepted 29 August 2012

Available online 25 September 2012

#### Keywords:

Comprehensive two-dimensional gas chromatography  
GC × GC  
Nitrogen chemiluminescence detector  
NCD  
Middle distillates

### ABSTRACT

Nitrogen speciation in crude oil and its fractions has become an important issue due to the undesirable effects of nitrogen compounds during important petroleum refining processes. In this work, a comprehensive two-dimensional gas chromatography method with a nitrogen chemiluminescence detector (GC × GC-NCD) was used for the speciation and quantification of nitrogen compounds in middle distillates. The developed method is based on an extraction of nitrogen compounds from the hydrocarbon matrix followed by their fractionation using solid phase extraction (SPE). Two fractions were collected thus minimizing misidentifications; the first one contained anilines, indoles and carbazoles and the second one contained pyridines, quinolines and acridines. An excellent agreement for total nitrogen content was found between the results obtained with the present method and those from the American Society for Testing Materials (ASTM) method. Good recoveries, repeatability and low detection limits (LOD), in a range from 10 to 20 µg L<sup>-1</sup>, were also achieved.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Nitrogen-containing compounds that occur in crude oil adversely affect many of the important petroleum processes such as hydrocracking and hydrotreating; for instance, due to their polarity and basicity, these compounds may poison the catalysts used in hydrocracking, catalytic cracking and reforming, through interactions with acid sites of catalysts. In addition, although nitrogen-compounds (N-compounds) are present in low concentrations in typical feedstocks, they have a negative influence on product stability [1,2]. Moreover, these compounds often have carcinogenic and mutagenic activities [3] and they are precursors of nitrogen oxides which are responsible for air pollution [4].

Most of the nitrogen that occurs in petroleum is present as organic compounds, mainly multiple aromatic heterocyclic rings. The N-compounds have been classified into two different groups; neutral and basic. Basic N-compounds usually cover pyridines, quinolines and acridines, while neutral nitrogen species include pyrroles, indoles, carbazoles and benzocarbazoles. The current economic and oil reserve conditions worldwide have increased the necessity of processing heavy oils with a much higher nitrogen content. Therefore, detailed knowledge of the type and concentration of N-compounds present in petroleum products is clearly needed to optimize the hydrodenitrogenation process (HDN) in order to improve the elimination of nitrogen in middle distillates. Moreover, the low reactivity of nitrogen makes HDN the most challenging hydrotreatment reaction, while the high reactivity of the N-compounds inhibits the hydrodesulfurization (HDS) process [5,6].

Gas chromatography (GC) hyphenated with specific detectors has been widely used for the speciation of N-compounds in middle

\* Corresponding author. Tel.: +34 91 753 76 33; fax: +34 91 753 86 13.  
E-mail address: [shuertasdl@repsol.com](mailto:shuertasdl@repsol.com) (S. Huertas).

distillates. Detectors such as atomic emission (AED) [7] or mass spectrometry (MS) [8,9] have been widely used to determine hetero-atoms containing compounds, as they have enough sensitivity to detect low concentration levels in complex samples. However, owing to their high sensitivity and selectivity, nitrogen chemiluminescence (NCD) and nitrogen phosphorus detectors (NPD) have been the most widely used for nitrogen speciation [10]. The main advantage offered by the NCD compared to the AED, MS and NPD is that the response to nitrogen compounds is equimolar [11,12]; therefore, quantification of the N-compounds is found to be easier since it is not necessary to have all the standards.

Recent studies in characterization of N-compounds in fuel have demonstrated the advantages of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC  $\times$  GC) over conventional gas chromatography. GC  $\times$  GC accomplishes better separations than GC, reducing the peak overlapping of N-compounds that occurs in diesel samples [13] and therefore achieving better identifications and quantifications. However, despite the great resolution of GC  $\times$  GC, fractionation of the nitrogen species is still necessary because of the overlap of some nitrogen families. Usually the N-compounds are separated into basic and neutral types. However, for complex samples this separation is not enough as in the basic fraction, pyridines, anilines, quinolines and acridines overlap.

In this study, a simple and reliable method to identify and quantify the organic N-compounds that occur in middle distillates has been developed. It is based on SPE to separate specific nitrogen families which overlap even in GC  $\times$  GC chromatography. In the first part of this study, first and second dimension columns used in GC  $\times$  GC were optimized. Then, optimization of the SPE fractionation is described, underlining the advantages of SPE over other separation techniques. Finally, N-compounds were determined in different samples and the results obtained for total N content were compared with those found by the ASTM-4629 reference method.

## 2. Experimental

### 2.1. GC $\times$ GC-NCD setup

The GC  $\times$  GC-NCD system consisted of a 7890 GC (Agilent Technologies) fitted with a N<sub>2</sub> quad jet thermal modulator (LECO), a nitrogen chemiluminescence detector (NCD) 255 Dual Plasma (Agilent Technologies) and a split/splitless injector (model 7683 Autosampler Injector). Four different sets of columns were tested (Table 1) and set A was chosen due to its better results; chromatographic conditions are listed in Table 2. The acquisition of the data was performed with the NCD and processed with Leco-ChromaTOF software (v 4.32).

### 2.2. GC $\times$ GC-TOFMS setup

The GC  $\times$  GC system was the same as indicated in Section 2.1. The time of flight mass spectrometry (TOFMS) system was a Pegasus IV TOFMS (LECO, St. Joseph, MI, USA); chromatographic conditions are also those listed in Table 2. Identification of compounds was performed by comparison with the NIST 2.0 (2008) library.

### 2.3. Total nitrogen content

Total nitrogen content was determined according to ASTM-4629 [14]. A TN 3000 Nitrogen total analyzer (Thermo Electron Corporation) was used to measure total nitrogen content.

**Table 1**

Sets of columns tested for GC  $\times$  GC-NCD.

Set	First column	Second column
A	DB-1 (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 $\mu$ m)	BPX-50 (1 m $\times$ 0.10 mm $\times$ 0.10 $\mu$ m)
B	DB-1 (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 $\mu$ m)	ZB-1701 (1 m $\times$ 0.10 mm $\times$ 0.10 $\mu$ m)
C	HP-Innowax (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 $\mu$ m)	Equity-1 (1 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 $\mu$ m)
D	DB-1 (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 $\mu$ m)	IL-59 (1 m $\times$ 0.10 mm $\times$ 0.08 $\mu$ m)

ZB-1701, 14% cyanopropylphenil–84% dimethylpolysiloxane. Phenomenex, USA.  
DB-1, dimethylpolysiloxane, J&W Scientific, Folsom, CA, USA.  
HP-InnoWax, polyethyleneglycol. J&W Scientific, Folsom, CA, USA.  
BPX-50, 50% phenyldimethylsiloxane, SGE, Courtaboeuf, France.  
Equity-1, dimethylpolysiloxane, Supelco, PA, USA.  
IL-59, 1,12-di(triisopropylphosphonium)dodecane bis(trifluoromethane-sulfonyl)imide, Supelco, Bellefonte, USA.

### 2.4. Standards and samples

A standard solution containing 13 N-compounds purchased from Sigma-Aldrich and Acros (see Table 3) was used to check the viability of the extraction of basic and neutral species in order to determine the reproducibility and the recovery of the method. The standard solution was prepared by dissolving the commercial N-compounds in light cycle oil (LCO) free of nitrogen, covering a concentration range from 1 to 4.7 ppm N. To obtain LCO free of nitrogen, a weighed amount of LCO was loaded to the top of a glass chromatographic column packed with activated silica gel; n-hexane was added to the column to elute non-aromatic and aromatic compounds, while the N-compounds were trapped in the top of the column. The n-hexane from the collected fractions was completely removed by evaporation with the rotary evaporator, and residues (LCO) were weighed. This was performed with the aim of reproducing the matrix effect of the samples.

Several middle distillate samples with different nitrogen content were collected from different industrial Repsol YPF complexes.

### 2.5. Sample preparation

N-compounds were extracted and separated into basic and neutral fractions by SPE which was adapted from Wiwel et al. [15]. Separation was achieved using silica 0.5 g SPE cartridges (J.T. Baker); these were used once and discarded. 1 mL of sample was applied to the silica SPE column. The hydrocarbon matrix was eluted from the column with 9 mL of n-hexane whereas the nitrogen-containing compounds were trapped on the silica SPE-column. Aniline, indole and carbazole compound classes were eluted off the column with 9 mL of dichloromethane while pyridine, quinoline and acridine compound classes were eluted with 6 mL of acetone. The recovered fractions were evaporated in a nitrogen atmosphere to 1 mL.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Optimization of the GC $\times$ GC-NCD method

Four sets of columns were tested in order to accomplish a good separation of N-compounds (Table 1). As shown in Fig. 1, the separation of the 13 N-compounds from the standard solution was achieved with the four tested sets of columns. However, none of these sets provided a good separation of the N-compounds when diesel samples were analyzed, due to their complexity. In fact, column set C presented the worst separation between anilines and quinolines. Column sets B and D, involving a more polar second

**Table 2**  
Optimized chromatographic conditions.

	GC × GC-NCD	GC × GC-TOFMS
1D column	DB-1 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)	
2D column	BPX-50 (1 m × 0.10 mm × 0.10 μm)	
Injection	1 μL Split 1:10 at 300 °C	1 μL Splitless at 300 °C
Flow rate of He carrier gas	Constant flow: 1.5 mL min <sup>-1</sup>	
First oven T program	60–290 °C at 2 °C min <sup>-1</sup>	
Second oven T program	65–295 °C at 2 °C min <sup>-1</sup>	
Modulator T	30 °C Above the first oven T	
Modulation period	10 s, Hot pulse 0.8 s	
NCD		
Transfer T	200 °C	
Burner T	900 °C	
Oxygen flow	9 sccm	
Hydrogen flow	4 sccm	
Dual plasma pressure	100 Torr	
TOFMS		
Source T	250 °C	
Transfer line T	225 °C	
El ionization	–70 eV	
Acquisition frequency	150 Hz	

**Table 3**  
Composition of the standard solution.

Specie	Compound	Concentration (Nppm)
Neutral	Carbazole	1.12
	Indole	4.74
	2-Methylindole	1.74
Basic	Aniline	1.53
	2-Ethylaniline	1.64
	4-Ethylaniline	1.37
	Acridine	1.62
	9-Methylacridine	0.90
	Quinoline	2.11
	Isoquinoline	2.01
	2,6-Dimethylquinoline	1.20
	2-Ethylpyridine	1.75
	4-Ethylpyridine	3.31

dimension column, permitted a better separation of these compounds; however, the non-basic species such as indoles and carbazoles presented tailing peaks. For these reasons, systems B and D were rejected. Column set A allowed similar separation of the studied species to systems B and D but as the stationary phase of the BPX-50 has an intermediate polarity, both basic and neutral N-compounds presented less tailing than the other sets. Furthermore, the maximum operating temperature of the BPX-50 column is higher, up to 370 °C; therefore, set A was chosen from among the studied sets.

Optimized chromatographic conditions are shown in Table 2. A long modulation period was used in order to prevent wrap-around. While wrap-around is not a problem as long as the peaks do not overlap in the chromatogram, nevertheless, it should be avoided whenever possible. The hot pulse was 0.8 s in order to improve the elution of heavier compounds such as carbazoles and acridines from the modulator.

### 3.2. SPE fractionation of N-compounds

The lack of an optimum chromatographic separation for N-compounds in complex samples, even using the selected column set, gave rise to a misidentification of N-compounds and, therefore,

to an incorrect quantification of the species. For this reason, a fractionation of the N-compounds present in diesel samples was needed. In this study SPE was used to separate the studied N-compounds. SPE is not only a simple sample preparation technique but also eliminates many of the issues associated with liquid/liquid extraction, such as emulsion formation [16], excessive use of solvent and time-consuming character; moreover, SPE can be automated. In the developed method two fractions were obtained. The dichloromethane fraction contained anilines, indoles and carbazoles, while pyridines, quinolines and acridines were in the acetone fraction. Consequently, coelutions between pyridines–anilines, quinolines–indoles and acridines–carbazoles were prevented. Figs. 2 and 3 show typical GC × GC-NCD plots of dichloromethane and acetone fractions respectively, obtained from a middle distillate sample. In Figs. 2 and 3 it is possible to observe the separation of nitrogen families and the roof-tile effect. Each tile was grouped as within each tile there is an ordering based on the branching of the alkyl-substituents on the N-families with a specific carbon number (C<sub>0</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, etc.). Therefore, even if standards were not available to identify each compound, it would be possible to separate and quantitate each nitrogen family from C<sub>0</sub> to C<sub>5</sub>. Commonly, petrochemical samples contain all the homologs of a hydrocarbon group. However, as shown in Fig. 2, the C<sub>3</sub>-aniline group is not present. This may be because the C<sub>3</sub>-aniline concentration is lower than the NCD detection limit. In fact, only one compound belonging to the C<sub>2</sub>-anilines and another to the C<sub>4</sub>-anilines have been detected.

### 3.3. Method validation

The developed method was validated by determining its analytical characteristics; the results are listed in Table 4. Firstly, the linearity of the response was evaluated with N-standards at concentrations ranging between 0.5 mg kg<sup>-1</sup> and 25 mg kg<sup>-1</sup>. The families studied presented determination coefficients (*R*<sup>2</sup>) greater than 0.99. Four replicates of the entire procedure, from sample preparation to chromatographic analysis, were made with the standard solution described in 2.4, in order to estimate RSD values and thus to evaluate the repeatability of the method; these values were calculated for each N-family. Carbazole and anilines presented a RSD around 7% while the lowest RSD was found for pyridines. LOD and LOQ were obtained considering 3 and 10 times the SD of the noise area respectively, and using 10 injection replicates of a standard solution containing approximately 100 ppb of each N-standard. The average of detection and quantification limits was also calculated for each N-family and low results were obtained for neutral N-compounds. Recovery was estimated using the standard solution described in 2.4 ranging between 70% and 110% for the N-families studied.

### 3.4. Evaluation of NCD performance

In order to check the analytical performance of NCD, the standard solution (described in 2.4) was analyzed five times. The equimolar response was estimated for each N-compound contained in the standard solution by the calculation of the elementary nitrogen response and a RSD less than 5% was found. The equimolar response of the N-compounds is in accordance with molecular weight (MW) and the number of nitrogen atoms present in the compound (Eq. (1)).

$$\text{Eq.response} = \frac{\text{Area} \times \text{MW}}{\text{Numb.N.atoms} \times 14 \times \text{Conc.N.comp.}} \quad (1)$$

where Eq.response is the equimolar response for each N-compound, Area is the area of each N-compound, MW is the molecular weight, Numb.N.atoms is the number of nitrogen atoms present in the compound, and Conc.N.comp is the concentration of the N-compound in the standard solution

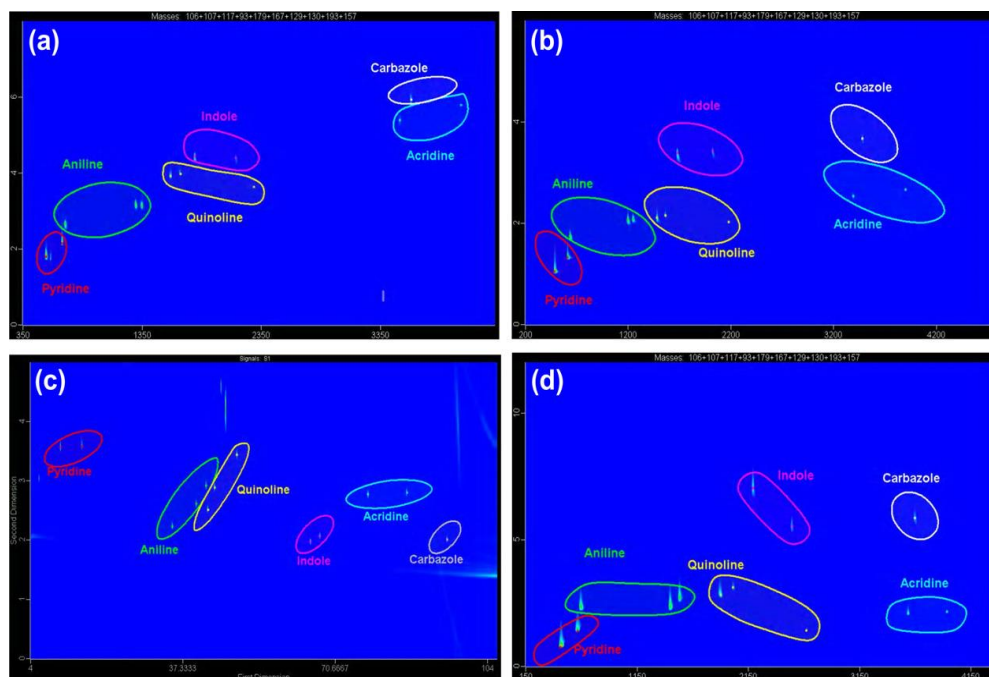


Fig. 1. 2-D color plots of a standard solution obtained using the tested set of columns by GC  $\times$  GC-NCD: (a) set A (DB-1  $\times$  BPX-50), (b) set B (DB-1  $\times$  ZB-1701), (c) set C (HP-Innowax  $\times$  Equity-1) and (d) set D (DB-1  $\times$  IL-59).

### 3.5. Quantitative analysis of middle distillate samples

Although a GC  $\times$  GC system provides structured chromatograms where hydrocarbons are arranged according to their chemical group and number of carbon atoms [17], in order to assure the assignment of the N-compounds in middle distillate samples, identification was firstly performed using GC  $\times$  GC-TOFMS and the NIST mass spectrum library. Once the retention times of the N-families were established, using the same chromatographic conditions as in GC  $\times$  GC-TOFMS and several N-compound standards, the retention times and the elution order of the N-families were

verified by the GC  $\times$  GC-NCD system. Finally, the quantifications could be easily accomplished since the NCD offers an equimolar response.

About 30 samples were analyzed by the developed method but only 10 of them (Table 5), having different nitrogen content, N-families and final distillation point, were chosen as examples of the variety of samples that could be analyzed. The results were compared with those found by the ASTM reference method and good agreement for total N content was evident in most cases. However, as shown in Table 5, for distillate A, the difference between both methods is close to 20%. This can occur when the

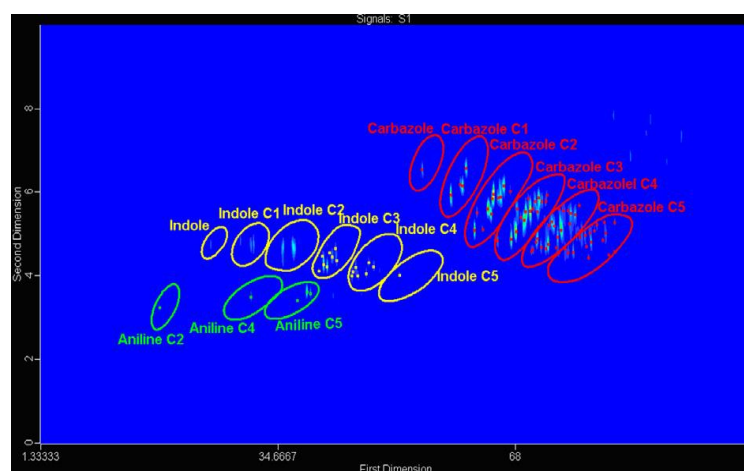
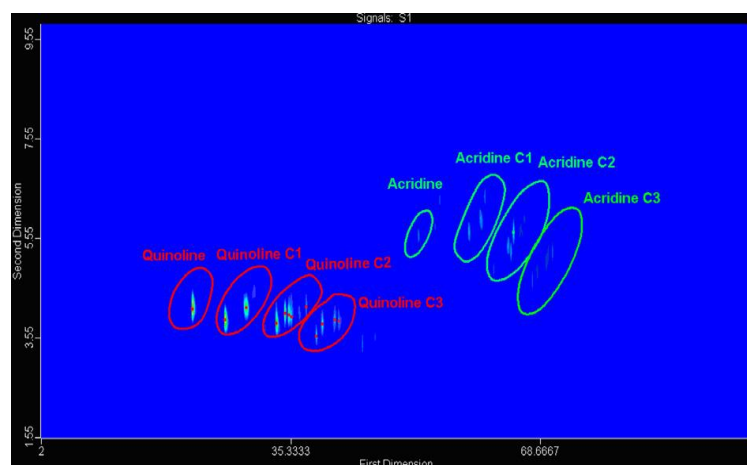


Fig. 2. 2-D color plot of the dichloromethane fraction obtained from a petroleum sample, containing anilines, indoles and carbazoles. The N-families are enclosed in contours according to both their chemical group and number of carbon atoms.





**Fig. 3.** 2-D color plot of the acetone fraction obtained from a petroleum sample, containing pyridines, quinolines and acridines. The N-families are enclosed in contours according to both their chemical group and number of carbon atoms.

**Table 4**

Validation results for the developed method. Determination coefficients have been obtained from a set of standards covering the concentration range from 0.5 to 25 mg kg<sup>-1</sup>. The RSD, recovery, LOD and LOQ values are averages for the compound families.

	$R^2$	Aver. RSD (%)	Aver. recovery (%)	Aver. LOD (ppm)	Aver. LOQ (ppm)
Carbazole	0.999	7.2	94.2	0.007	0.012
Aniline	0.995	7.2	79.1	0.003	0.010
2-Ethylaniline	0.997				
4-Ethylaniline	0.993				
Indole	0.999	4.6	73.1	0.004	0.010
2-Methylindole	0.993				
Acridine	0.996	5.8	111.4	0.010	0.020
9-Methylacridine	0.995				
Quinoline	0.999	5.7	77.1	0.003	0.010
2,6-Dimethylquinoline	0.995				
Isoquinoline	0.998				
2-Ethylpyridine	0.992	3.0	104.1	0.002	0.009
4-Ethylpyridine	0.993				

**Table 5**

Quantitation of N-compounds in middle distillates. All concentrations are given in mg L<sup>-1</sup>.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Carbazoles	222.1	23.9	686.0	303.2	297.5	503.3	126.7	147.2	939.5	0.0
Anilines	0.0	0.0	21.2	6.7	0.0	53.5	0.0	26.2	14.9	16.7
Indoles	0.0	0.0	134.5	109.7	0.0	156.7	0.0	223.3	117.9	0.0
Acridines	1.6	0.0	165.8	0.8	0.0	0.0	0.0	2.8	0.3	0.0
Quinolines	0.8	0.0	5.8	0.0	0.0	8.2	0.0	83.1	0.0	0.0
Pyridines	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	31.6	0.0	0.6
Total N	224.5	23.9	1047.3	420.4	297.5	721.1	126.7	514.2	1072.6	17.3
GC × GC-NCD										
Total N										
ASTM-4629	276.0	23.0	1050.0	421.0	298	710.0	131.0	520.0	1068.0	18.0

nitrogen contained in a petrochemical sample is not only organic but also inorganic. Moreover, as is described in Section 3.6, other N-families can be presented in middle distillates.

Due to the achieved separation (described in 3.2), it was possible to identify each N-species and thereby the MW of the respective N-compound; therefore, the quantitation was reliable.

Moreover, the yields of recoveries calculated for each N-compound family (Table 4) were applied to determine the nitrogen content in middle distillate samples. Hence, the nitrogen content and each

N-compound were calculated in accordance with Eqs. (2) and (3) respectively.

$$\text{Con.N} = \frac{\text{Area} \times 100}{\text{Eq.response} \times \text{recovery}} \quad (2)$$

$$\text{Con.N.comp.} = \frac{\text{Area} \times \text{MW} \times 100}{\text{Numb.N.atoms} \times 14 \times \text{Eq.response} \times \text{recovery}} \quad (3)$$

### 3.6. Identification of other N-compounds

Other organic N-compounds were identified in various samples by GC  $\times$  GC-TOFMS. Compounds such as benzocarbazoles and cinnolines were found in samples with higher final distillation points and they were eluted in the dichloromethane fraction, while pyrroles and nitriles were found in lighter fractions and eluted in the acetone fraction. In addition, other N-compounds such as formilides and acridones were identified, but they were rarely found in the studied samples.

### 4. Conclusions

The proposed method based on SPE fractionation followed by GC  $\times$  GC-NCD allowed identification and quantitation of N-compounds which are present in a great variety of middle distillates with different final distillation points and containing different nitrogen species and concentrations. Moreover, with this method the fractionation of N-compounds was improved as the overlapping between basic N-compounds (anilines, pyridines, and quinolines) is avoided.

When the obtained results were compared with the ASTM-4629 reference method a good concordance was found; hence the reliability of the method was confirmed.

This method may be useful in the petroleum industry because it is possible to know the distribution of the organic N-compounds and to obtain quantitative results for the content of individual N-compounds in diesel fuel and in hydrotreated products. Furthermore,

the proposed method covers the typical nitrogen levels (from 20 to 1000 mg L<sup>-1</sup> total N) found in middle distillates; thus, the versatility of the technique permits its application for lighter or heavier distillates.

### References

- [1] Dorbon M, Bernasconi C. *Fuel* 2008;69:1067.
- [2] Chan LE, Crisp PT. *J Chromatogr* 1984;292:355.
- [3] Chuen-Huei HO, Clark BR, Guerin MR, Barkenbus BD, Rao TK, Epler JL. *Mutat Res/Env Mutag Relat Subjects* 1981;85:335.
- [4] Brodzinsky R, Cantrell BK, Endlich RM, Bhunralkar CM. *Atmos Environ* 1984;18:2361.
- [5] Zeuthen P, Knudsen KG, Whitehurst DD. *Catal Today* 2001;65:307.
- [6] Laredo GC, De los Reyes JA, Cano JL, Castillo JJ, Altamirano E. *Appl Catal A* 2001;207:103.
- [7] Wiwel P, Knudsen K, Zeuthen P, Whitehurst D. *Ind Eng Chem Res* 2000;39:533.
- [8] Mushrush GW, Beal EJ, Hardy DR, Hughes JM. *Fuel Proces Tech* 1999;61:197.
- [9] Cheng X, Zhao T, Fu X, Hu Z. *Fuel Proces Tech* 2004;85:1463.
- [10] von Mühlen C, de Oliveira EC, Morrison PD, Zini CA, Caramão EB, Marriott PJ. *J Sep Sci* 2007;30:3223.
- [11] Chawla B. *J Chromatogr Sci* 1997;35:97.
- [12] Yu WC, Fine DH, Chiu KS, Biemann K. *Anal Chem* 1984;56:1158.
- [13] Adam F, Bertocini F, Brodusch N, Durand E, Thiébaud D, Espinat D, et al. *J Chromatogr A* 2007;1148:55.
- [14] ASTM-4629. Standard test method for trace nitrogen in liquid petroleum hydrocarbons by syringe/inlet oxidative combustion and chemiluminescence detection.
- [15] Wiwel P, Hinnemann B, Hidalgo-Vivas A, Zeuthen P, Petersen BO, Duus JØ. *Ind Eng Chem Res* 2010;49:3184.
- [16] Adam F, Bertocini F, Dartiguelongue C, Marchand K, Thiébaud D, Hennion MC. *Fuel* 2009;88:938.
- [17] Beens J, Blomberg J, Schoenmakers PJ. *J High Resol Chromatogr* 2000;23:182.

Kristina Lissitsyna<sup>2</sup>  
 Sonia Huertas<sup>1</sup>  
 Luis Carlos Quintero<sup>1</sup>  
 Luis Maria Polo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Tecnológico de Repsol,  
 Madrid, Spain

<sup>2</sup>Universidad Complutense de  
 Madrid, Departamento de  
 Química Analítica, Madrid,  
 Spain

Received January 15, 2013

Revised February 23, 2013

Accepted March 6, 2013

## Research Article

# Quantitation method of *N,N'*-disalicylidene-1,2-propanediamine by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to a nitrogen chemiluminescence detector

Metal deactivator additives (MDAs) have been used for over 60 years to prevent metal catalyzed reactions in petroleum products; a commonly used metal deactivator is *N,N'*-disalicylidene-1,2-propanediamine. The quantitation of low MDA concentrations in fuels is challenging due to the complexity of the sample matrix. In this work, this difficulty was overcome using GC × GC hyphenated with a nitrogen chemiluminescence detector. The high resolution power of GC × GC avoided co-elution between the MDA and other sample matrix compounds; while the enhanced sensitivity of GC × GC and the use of a nitrogen chemiluminescence detector supplied a high sensitivity and specificity for nitrogen compounds. For the analysis, the MDA additive was derivatized with the silylation agent *N,O*-bis (trimethylsilyl)trifluoroacetamide at room temperature and its quantitation was based on an external calibration curve; good linear response was obtained in the 1.4–8.6 ppm range.

**Keywords:** Comprehensive two-dimensional gas chromatography / Diesel / Metal deactivator additive / Nitrogen chemiluminescence detector  
 DOI 10.1002/jssc.201300050

## 1 Introduction

Additive packages are needed in order to improve fuel properties. These packages are commonly formed by oxidant, corrosive and foam inhibitors, detergents, and dispersants, which are able to stabilize the fuel and prevent its corrosion and remove or prevent the formation of engine deposits. Dispersants, in particular, are used in engine oils to prevent the coagulation of carbon deposits that might block fuel flow since they help to stabilize small colloidal particles. On the other hand, metal deactivator additives (MDAs) are used to inhibit metal catalyzed fuel oxidation reactions in petroleum samples, since trace metals such as copper, cadmium, iron, cobalt, and zinc, both in the fuel and on surfaces, may have a negative impact on thermal and storage stability [1]. One of the first metal deactivator to be developed was the *N,N'*-

disalicylidene-1,2-propanediamine (commonly referred to as MDA). In previously reported works, the beneficial effects of MDA on fuel thermal stability have been demonstrated [2]. The chemistry of how this additive is thought to work is related to its chemical structure; as is shown in Fig. 1, the molecule contains two amine and two phenol groups, and due to these functional groups, MDA interacts very strongly with metal ions and inhibits fuel oxidation. Hence, three primary actions are attributed to MDA: chelation, surface passivation, and bulk phase reactivity [3].

The additives used to improve fuel properties can be added individually or in packages. In fact, the effect of some additives on fuel has already been described, both when they were introduced individually or in combination with other additives [4]. These studies demonstrated that some additive combinations could be more beneficial than any individual additive since some additives used together caused greatest auto-oxidation inhibition.

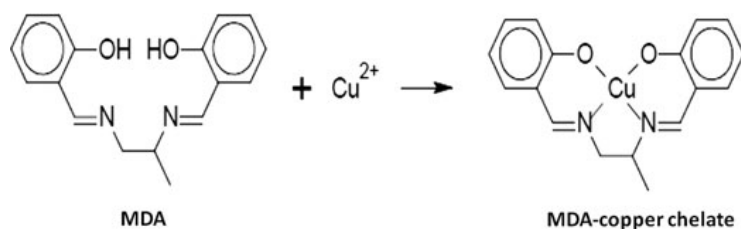
Knowing the MDA concentration in middle distillates may be useful because it could lead to a clearer understanding of the behavior of MDA toward metals. It indicates how much of it will be complexed by metals and therefore may allow improving fuel properties by adding the right amount of MDA. Striebich et al. [5] have proposed a quantitative method for MDA determination in aviation fuel based on GC-MS. The analysis required MDA derivatization using a silylation

**Correspondence:** Dr. Kristina Lissitsyna, Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Química Analítica, Avda. Complutense s/n, 28040, Madrid, Spain  
**E-mail:** kristina.lissitsyna@servexternos.repsol.com  
**Fax:** +34 91 753 86 13

**Abbreviations:** BSTFA, *N,O*-bis (trimethylsilyl)trifluoroacetamide; FID, flame ionization detector; GC × GC, comprehensive two-dimensional gas chromatography; LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantification; MDA, metal deactivator additive; NCD, nitrogen chemiluminescence detector; SCD, sulfur chemiluminescence detector

Colour Online: See the article online to view Figs. 2–4 in colour.





**Figure 1.** MDA reaction with copper to form MDA copper chelate.

reagent; the 220 and 235 mass ions were chosen for quantitation as they were abundant in silylated MDA.

A powerful analytical tool for the separation of complex mixtures is comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC  $\times$  GC). This technique has been applied to petrochemical samples since it was introduced by Liu and Phillips [6]; moreover, several reviews are available in the literature describing its principles, applications, and developments [7–12]. In brief, the technique combines two GC columns with different separation mechanisms. The two columns are connected by a modulator, a device that focuses and subsequently transfers fractions of the effluent from the first column to the second one. Due to the refocusing process during the modulation operation, system sensitivity is enhanced. Moreover, the combination of two columns increases peak capacity as it is considered that the technique provides  $n_1 \times n_2$  peak capacity where  $n_1$  and  $n_2$  are the peak capacities of the first and the second column, respectively. Thus, the greater resolution and enhanced sensitivity of the GC  $\times$  GC technique offer a unique capability for the analysis of extremely complex mixtures.

Separation in the second column is extremely fast, taking only 1–10 s as against 45–120 min for the first dimension separation. The fast separation in the second dimension gives rise to very narrow peaks (100–600 ms at the baseline) [13–15], which require fast detectors in order to reconstruct the second dimension chromatograms properly. GC  $\times$  GC has been coupled to detectors such as electronic microcapture detector [16], quadrupole mass spectrometer [17], atomic emission detector [18], sulfur chemiluminescence detector [19], and flame ionization detector [20]. However, time of flight mass spectrometer (TOFMS) has been the preferred detector owing to its high-acquisition rate and identification power for the analysis of petrochemical samples [21]. Although TOFMS has also been used for quantification [22], normally, it was first employed as a chemical identification tool and quantification was further done using a flame ionization detector due to its greater dynamic linear range and similar response factor for the same chemical class of compounds [23]. Recently, the advantages of GC  $\times$  GC hyphenated to nitrogen chemiluminescence detector (NCD) for the analysis of nitrogen compounds in diesel samples have been described [24]. It was found that the detector is fast enough to be used for GC  $\times$  GC applications and it appeared that NCD offers decisive advantages in terms of selectivity, sensitivity, linearity, and equimolarity [25].

The aim of this study was to develop a novel and reliable method to identify and quantify MDA in diesel by

GC  $\times$  GC-NCD after a derivatization step with BSTFA. The measured MDA is free in solution i.e. not complexed with metals. The first part of this paper deals with the evaluation of GC-MS and GC-NCD methods in order to establish their suitability for MDA measurement in diesels. In the second part, the chromatographic conditions of the method based on GC  $\times$  GC-NCD were optimized and the method was validated.

## 2 Experimental

### 2.1 GC-MS instrumentation

The GC-MS system consisted of a 7890 gas chromatograph equipped with a 7683 split/splitless autosampler injector and a HP 5973 quadrupole MS detector (Agilent Technologies, Massy, France). The column was a nonpolar DB-5MS 60 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m (Agilent Technologies, Massy, France). The carrier gas was helium at a constant flow of 1 mL/min. A 0.2  $\mu$ L sample volume was injected at 300°C in splitless mode. The oven temperature was increased from 150°C (held 1 min) to 300°C at a rate of 10°C/min; the temperature was held for 10 min and then was ramped to 325°C at 20°C/min (held 15 min). The total run time was 42.25 min. The MS source and quadrupole mass spectrometer detector temperatures were set at 230 and 150°C, respectively.

### 2.2 GC $\times$ GC-NCD setup

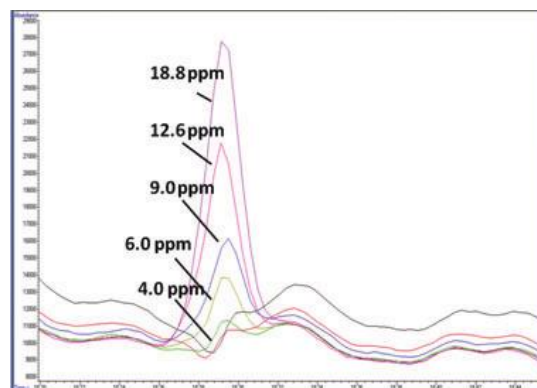
The GC  $\times$  GC-NCD system consisted of a 7890 GC (Agilent Technologies) fitted with a N<sub>2</sub> quad jet thermal modulator (LECO), a nitrogen chemiluminescence detector (NCD) 255 Dual Plasma (Agilent Technologies) and a 7683 Autosampler split/splitless injector (Agilent Technologies). Chromatographic conditions are listed in Table 1. Acquisition of data was performed with the Leco-ChromaTOF software (v 4.32).

### 2.3 Reagents

*N,N'*-Disalicylidene 1,2-propanediamine (MDA) and *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) were provided by Sigma-Aldrich.

**Table 1.** Optimized chromatographic conditions

GC × GC	
1D column	DB-1 (dimethylpolysiloxane) (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)
2D column	BPX-50 (50% phenyldimethylpolysiloxane) (2 m × 0.10 mm × 0.10 μm)
Injection	1 μL splitless at 300°C
Flow rate of He carrier gas	Constant flow: 1.5 mL/min
First oven T program	80 to 290°C at 4°C/min
Second oven T program	85 to 295°C at 4°C/min
Modulator T	30°C above the first oven T
Modulation period	4 s, hot pulse 0.8 s
Run time	52.5 min
NCD	
Transfer T	200°C
Burner T	900°C
Oxygen flow	9 sccm
Hydrogen flow	3 sccm
Dual plasma pressure	100 Torr

**Figure 2.** GC-MS SIM chromatograms from silylated MDA standards in diesel. The ions used for analysis in GC-MS (SIM) were 178, 220, and 235 *m/z*.

## 2.4 Calibration standard solutions

A five point external standard calibration was used. Standard solutions were prepared by dissolving MDA in diesel B7 (blend of 7% biodiesel and 93% petrodiesel) with the aim of reproducing sample matrix effect. MDA concentration ranged from 1.4 to 8.6 mg/kg.

## 2.5 Samples

Twenty diesel samples were collected from Spanish suppliers and analyzed by GC × GC-NCD in order to determine the presence and concentration of MDA. These diesels, which were for vehicle use, included both “on-road diesel” (used for transport) and “off-road diesel” (primarily used in agricultural applications).

## 2.6 MDA derivatization procedure

MDA was derivatized by silylation with BSTFA in readiness for analysis by GC (GC-MS, GC-NCD, and GC × GC-NCD). An excess of 60 μL of BSTFA was added to a 1 mL aliquot of each standard solution (described in Section 2.4), while for a 1 mL aliquot of sample it was necessary to add 100 μL of BSTFA. Derivatization was performed at room temperature on a vortex mixer during 20 min.

## 3 Results and discussion

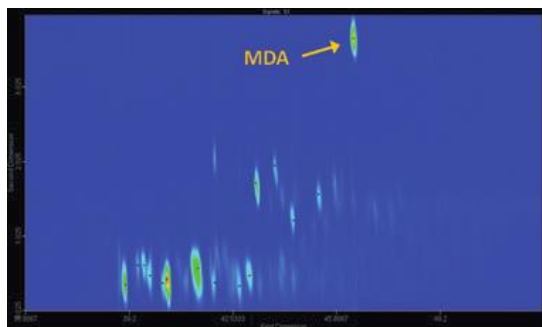
### 3.1 Evaluation of the gas chromatographic methods

#### 3.1.1 GC-MS method

According to Striebich *et al.* [5], the GC-MS method was found to be suitable to determine MDA in petroleum products. Hence, first, an attempt was made to quantify derivatized MDA in diesels by GC-MS; however, a MDA concentration lower than 4 mg/kg could not be measured. Initially, it was thought that MDA was adsorbed on the glass used to prepare the standards due to MDA reactivity with glass. Nevertheless, as was described by Striebich *et al.*, MDA glass adsorption affects mainly at concentrations <1 mg/kg while concentrations ranging between 2 and 6 mg/kg can be easily measured. Thus, the main reason for the MDA low response might be due to a matrix effect, which is originated by a co-elution of derivatized MDA with derivatized monoglycerides, in particular monopalmitine, and C25 *n*-paraffin. Monoglycerides are biodiesel contaminants resulting from an incomplete transesterification during biodiesel production. The amount of paraffin and of monopalmitine was much higher than that of MDA and although data was acquired in SIM mode (178, 220 and 235 *u.m.a* ions), the MDA signal suffered from variations probably due to an inefficient ionization because of a matrix effect [26]. As shown in Fig. 2, the MDA peak was suppressed when MDA concentrations were lower than 4 mg/kg, since the MDA signal was not distinguishable from the noise. Hence, it was concluded that a quantitative analysis of MDA in diesel by GC-MS was not possible at concentrations lower than 4 mg/kg.

#### 3.1.2 GC-NCD method

Because of NCD high sensitivity and selectivity for nitrogen compounds, the one-dimensional GC-NCD system was tried.



**Figure 3.** A 2D color plot zoom from a diesel sample containing 8 mg/kg of silylated MDA.

It was thought that NCD detection would not be affected by MDA co-elution with other compounds (see Section 3.1) and could allow low MDA concentrations to be measured. In addition, since the NCD supplies a linear and equimolar response toward nitrogen compounds [25], the MDA response factor should be greater as the MDA molecule contains two nitrogen atoms. The chromatographic conditions applied were the same as those described in the GC-MS method (Section 2.1) and identification was based on the retention time of silylated MDA. However, the one-dimensional GC-NCD system was also discarded; the matrix effect caused baseline fluctuation and the MDA peak showed both irregular shape and size for repeated sample injections thus compromising on the accuracy and precision of this technique.

### 3.1.3 GC × GC-NCD method

A second dimension was added to the GC-NCD system in order to improve resolution and overcome the problem of co-elutions. The GC × GC-NCD chromatographic conditions applied are listed in Table 1. Figure 3 shows a 2D color plot zoom of silylated MDA in diesel. For the experiment, a column combination was used, which is commonly employed for petrochemical samples [27]. A 5°C temperature offset between the first and second oven and a low temperature ramp rate were established in order to improve compound resolution; moreover, a short modulation period ( $P_M = 4$  s) was employed for the same purpose. The total run time was 52.5 min.

$P_M$  optimization is very important when dealing with complex samples or with low analyte concentrations. Short  $P_M$  improves the separation of co-eluted peaks, while long  $P_M$  may not be able to differentiate co-eluted compounds from each other, especially when MS is not used as a detector. Figure 4A–D shows a theoretical simulation of the modulation of a two closely eluting peaks; it can be seen that when short  $P_M$  are used the number of modulations is greater, therefore the 1D separation is preserved. As an example, Fig. 4 also shows that two real peaks are obtained using a short  $P_M$  (E) and a long  $P_M$  (F). Nevertheless, it must also be taken into account that long  $P_M$  could be more suitable for

low analyte concentrations or for more accurate analysis because short  $P_M$  produces more modulated peaks than longer  $P_M$  and these present smaller area and height signals, especially those located on the sides of a peak. These modulated peaks can be so small that they may fade into the noise and therefore their areas would not be quantified, which could make trace analysis difficult. Moreover, wrap-around effect should also be taken into account since it is more likely to occur with short  $P_M$  and could lead to new co-elutions. Therefore, it is necessary to get a compromise between shorter or longer  $P_M$ . In this experiment, short  $P_M$  was preferred due to the complexity of the sample and the observed co-elutions. Consequently, as is shown in Fig. 3, by using short  $P_M$  in a 2D separation, it was possible to separate the silylated MDA molecule from the matrix and overcome the problem of high detection limits and low precision observed in the other chromatographic systems studied (GC-MS and GC-NCD).

### 3.2 GC × GC-NCD method validation

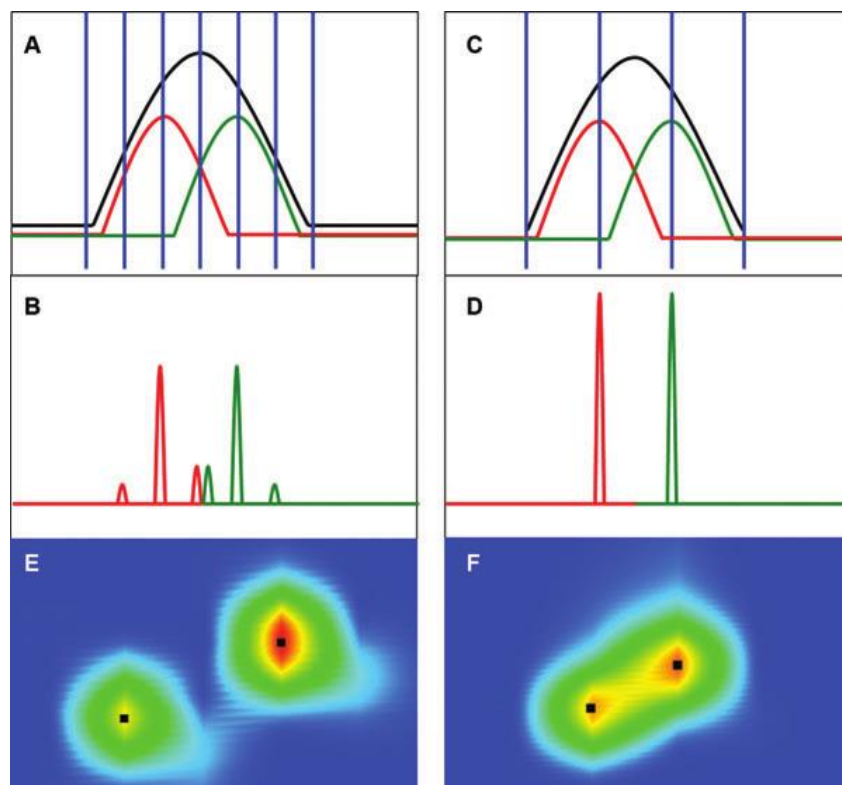
To validate the method, the following parameters were evaluated: linearity, repeatability, detection, and quantification limit. The response linearity was determined preparing a calibration curve with five concentrations and three replicates; the MDA concentration of standard solutions ranged between 1.4 and 8.6 mg/kg, which is the usual range in commercial diesel. This calibration curve presented a determination coefficient ( $R^2$ ) > 0.99 and the calibration equation was  $y = (5326x - 5592) \times 10^7$ .

The repeatability of the entire procedure, from sample preparation to chromatographic analysis, was evaluated from the RSD value. For that purpose, five standard solutions containing 7 mg/kg of MDA were derivatized and measured. The estimated RSD value was around 3%.

The limit of detection (LOD) and the limit of quantification (LOQ) were calculated considering three and ten times, respectively, the deviation standard of the  $S/N$  ratio, using 10 injection replicates of a standard solution containing 1 mg/kg of MDA. The obtained LOD and LOQ values were 0.46 and 0.66 mg/kg, respectively.

### 3.3 Quantitative analysis of MDA in diesel samples by GC × GC-NCD

Twenty diesel samples collected from the Spanish market were analyzed in order to detect the presence of MDA. A BSTFA volume excess of 100  $\mu$ L was required to be added to a 1 mL aliquot of sample since diesel samples may contain other additives such as butylated hydroxytoluene (BHT), which is likely to derivatize with BSTFA, as well as fatty acid methyl esters (FAME). As can be seen in Table 2, although MDA was detected in both on-road and off-road diesels, it was not detected in all samples, therefore not all manufacturers use this type of metal deactivator. MDA concentrations encountered in the samples studied were mostly between



**Figure 4.** Simulated modulation of two co-eluted peaks represented by green and red lines respectively using a short (A–B) and long  $P_M$  (C–D) represented by blue lines; (E) and (F) show two real peaks obtained using a short and long  $P_M$ , respectively.

**Table 2.** MDA content (mg/kg) determined in diesel samples collected from the Spanish market

On-road diesel	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
MDA content	ND	ND	4.5	ND	6.9	5.3	ND	ND	5.6	6.5
Off-road diesel	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
MDA content	ND	ND	ND	ND	5.0	5.3	ND	ND	5.6	4.7

4 and 5 mg/kg, although higher concentrations were found in samples E and J.

#### 4 Conclusions

The MDA in diesel samples was successfully quantified using a novel method based on a previous derivatization step with BSTFA and a subsequent analysis by GC  $\times$  GC-NCD. The developed method was validated showing its reliability to determine MDA concentration in the range usually present in diesel samples.

It has been demonstrated that GC  $\times$  GC is a powerful and versatile technique that can overcome problems encountered in conventional GC. Indeed, in contrast to GC-MS and GC-NCD, the 2D separation avoided MDA overlapping with

the sample matrix achieving accurate results through optimization of the modulation period. Thanks to its advantages over GC, GC  $\times$  GC is increasingly preferred for the analysis of a wide variety of highly complex samples.

#### 5 References

- [1] Batts, B. D., Fathoni, A. Z., *Energy Fuels* 1991, 5, 2–21.
- [2] Pande, S. G., Hardy, D. R., *Energy Fuels* 1998, 12, 129–138.
- [3] Waynick, A. J., *Energy Fuels* 2001, 15, 1325–1340.
- [4] Jones, E. G., Balster, W. J., Balster, L. M., *J. Eng. Gas Turbines Power* 1997, 119, 830–835.
- [5] Striebich, R. C., Grinstead, B., Zabarnick, S., *J. Chromatogr. Sci.* 2000, 38, 393–398.
- [6] Liu, Z. Y., Phillips, J. B., *J. Chromatogr. Sci.* 1991, 29, 227–231.
- [7] Ong, R. C. Y., Marriott, P. J., *J. Chromatogr. Sci.* 2002, 40, 276–291.
- [8] Bertsch, W., *J. High Resolut. Chromatogr.* 1999, 22, 647–655.
- [9] Marriott, P., Shellie, R., *Trends Anal. Chem.* 2002, 21, 573–583.
- [10] Dallüge, J., Vreuls, R. J. J., Beens, J., Brinkman, U. A. T., *J. Sep. Sci.* 2002, 25, 201–214.

*J. Sep. Sci.* 2013, 36, 1768–1773

Gas Chromatography 1773

- [11] Adahchour, M., Beens, J., Brinkman, U. A. T., *J. Chromatogr. A* 2008, 1186, 67–108.
- [12] Dallüge, J., Beens, J., Brinkman, U. A. T., *J. Chromatogr. A* 2003, 1000, 69–108.
- [13] Beens, J., Adahchour, M., Vreuls, R. J. J., Altena, K., van Brinkman, U. A. T., *J. Chromatogr. A* 2001, 919, 127–132.
- [14] Kinghorn, R. M., Marriott, P. J., *J. High Resolut. Chromatogr.* 1999, 22, 235–238.
- [15] Kristenson, E. M., Korytar, P., Danielsson, C., Kallio, M., Brandt, M., Mäkelä, J., Vreuls, R. J. J., Beens, J., Brinkman, U. A. T., *J. Chromatogr. A* 2003, 1019, 65–77.
- [16] Korytár, P., Leonards, P. E. G., Boer, J., de Brinkman, U. A. T., *J. Chromatogr. A* 2002, 958, 203–218.
- [17] Van de Weghe, H., Vanermen, G., Gemoets, J., Lookman, R., Bertels, D., *J. Chromatogr. A* 2006, 1137, 91–100.
- [18] Stee, L. L. P., van Beens, J., Vreuls, R. J. J., Brinkman, U. A. T., *J. Chromatogr. A* 2003, 1019, 89–99.
- [19] Hua, R., Li, Y., Liu, W., Zheng, J., Wei, H., Wang, J., Lu, X., Kong, H., Xu, G., *J. Chromatogr. A* 2003, 1019, 101–109.
- [20] Frysinger, G. S., Gaines, R. B., *J. High Resolut. Chromatogr.* 2000, 23, 197–201.
- [21] Westhuizen, R., van der Ajan, M., Coning, P., De Beens, J., Villiers, A., Sandra, P., *J. Chromatogr. A* 2011, 1218, 4478–4486.
- [22] Song, S. M., Marriott, P., Kotsos, A., Drummer, O. H., Wynne, P., *Forensic Sci. Int.* 2004, 143, 87–101.
- [23] Vendeuvre, C., Ruiz-Guerrero, R., Bertoncini, F., Duval, L., Thiebaut, D., Hennion, M. C., *J. Chromatogr. A* 2005, 1086, 21–28.
- [24] Wang, C. Y. F., Robbins, W. K., Greaney, M. A., *J. Sep. Sci.* 2004, 27, 468–472.
- [25] Adam, F., Bertoncini, F., Brodusch, N., Durand, E., Thiébaut, D., Espinat, D., Hennion, M. C., *J. Chromatogr. A* 2007, 1148, 55–64.
- [26] Hübschmann, H. J. (Ed.), *Handbook of GC/MS*, Chapter 2.3, Wiley-VCH, Weinheim 2008.
- [27] Vendeuvre, C., Ruiz-Guerrero, R., Bertoncini, F., Duval, L., Thiébaut, D., *Oil Gas Sci. Technol. Rev.* 2007, 62, 43–55.

## Anexo

*Scripts* empleados para la identificación de las familias estudiadas.

### n-Parafinas

```
FUNCTION Parafinas()
  Parafinas = ( Rank (1) = 43 AND Abundance (57) > 500 ) OR ( Rank
(1) = 57 AND Abundance (43) > 500 ) OR ( Rank (1) = 43 AND
Abundance (71) > 400 )
END FUNCTION
```

```
FUNCTION Parafinas_1()
n=1
Do while n<=10
z=(86+(n*14))
if z then Parafinas_1=true
n=n+1
Loop
END FUNCTION
```

```
FUNCTION PARAFINAS_2()
if Parafinas and Parafinas_1 then Parafinas_2=true
END FUNCTION
```

### Iso-parafinas

```
FUNCTION Parafinas()
  Parafinas = ( Rank (1) = 43 AND Abundance (57) > 500 ) OR ( Rank
(1) = 57 AND Abundance (43) > 500 ) OR ( Rank (1) = 43 AND
Abundance (71) > 400 )
END FUNCTION
```

```
FUNCTION Parafinas_1()
n=1
Do while n<=10
z=(86+(n*14))
if z then Parafinas_1=true
n=n+1
Loop
END FUNCTION
```

```
FUNCTION PARAFINAS_2()
if Parafinas and Parafinas_1 then Parafinas_2=true
END FUNCTION
```

**Nafteno-olefinas**

```

FUNCTION Naftenos()
  Naftenos= (Rank(1)=55 and (Rank(2)=97 or Rank(2)=83 or
Rank(2)=69 or Rank(2)=41)) or (Rank(1)=69) or Rank(1)=83 or
rank(1)=41 or rank(1)=97
END FUNCTION

```

**Dinaftenos**

```

FUNCTION DiNaftenos()
  n=1
  Do while n<=10
    x=(110+(n*14))
    if abundance(x)>20 then DiNaftenos=true
    n=n+1
  Loop
END FUNCTION

```

**Trinaftenos**

```

FUNCTION TriNaftenos()
  TriNaftenos= Rank(1)=79 or Rank(1)=93 or Rank(1)=135 or
Rank(1)=107 or Rank(1)=67
END FUNCTION

```

```

FUNCTION TriNaftenos_1()
  n=1
  Do while n<=5
    r=(107+(n*14))
    if r=rank(1) then TriNaftenos_1=true
    n=n+1
  Loop
END FUNCTION

```

```

FUNCTION TriNaftenos_2()
  if TriNaftenos or TriNaftenos_1 then TriNaftenos_2=true
END FUNCTION

```

**Bencenos**

```

FUNCTION Mono_Aromaticos()
if ( Rank (1) = 78 ) or ( Rank (1) = 77 ) OR ( Rank (1) = 91 ) OR ( Rank
(1) = 92 ) or ( Rank (1) = 117 ) or ( Rank (1) = 116 ) then
Mono_Aromaticos=true
END FUNCTION

```

```

FUNCTION Mono_Aromaticos_1()
n=1
Do while n<=5
x=(91+(n*14))
if x=rank(1) then Mono_Aromaticos_1=true
n=n+1
Loop
END FUNCTION

```

```

FUNCTION Mono_Aromaticos_2()
if Mono_Aromaticos or Mono_Aromaticos_1 then
Mono_Aromaticos_2=true
END FUNCTION

```

**Naftobencenos**

```

FUNCTION Nafteno_aromáticos_1()
n=0
Do while n<=10
x=(131+(n*14))
y=(104+(n*14))
if x=rank(1) or y=rank(1) then Nafteno_aromáticos_1=true
n=n+1
Loop
END FUNCTION

```

```

FUNCTION Indeno()
if ( Rank (1) = 117 ) then Indeno=true
END FUNCTION

```

```

FUNCTION Indeno_2()
if Indeno or Nafteno_aromáticos_1 then Indeno_2=true
END FUNCTION

```



**Dinaftobencenos**

```

FUNCTION Indene()
  if ((Rank(1)=115) or (Rank (1)=116 and Rank(2)=115)) then
    Indene=true
  END FUNCTION

```

```

FUNCTION Indene_1()
  n=1
  Do while n<=5
    x=(115+(n*14))
    y=(116+(n*14))
    if x=rank(1) or y=rank(1) then Indene_1=true
    n=n+1
  Loop
  END FUNCTION

```

```

FUNCTION Indene_2()
  if Indene or Indene_1 then Indene_2=true
  END FUNCTION

```

**Naftalenos**

```

FUNCTION Naftaleno()
  Naftaleno=(Rank(1)=128)
  END FUNCTION

```

```

FUNCTION Naftaleno_1()
  n=1
  Do while n<10
    z=(128+(n*14))
    y=(101+(n*14))
    x=(127+(n*14))
    if z=rank(1) or y=rank(1) or x=rank(1) then Naftaleno_1=true
    n=n+1
  Loop
  END FUNCTION

```

```

FUNCTION Naftaleno_2()
  if Naftaleno or Naftaleno_1 then Naftaleno_2=true
  END FUNCTION

```

**Bifenilos**

```

FUNCTION Bifenilo()
    Bifenilo=(Rank(1)=154)
END FUNCTION

FUNCTION Bifenilo_1()
    n=1
    Do while n<10
        z=(153+(n*14))          'bifenilos
        y=(154+(n*14))
        if z=rank(1) or y=rank(1) then Bifenilo_1=true
        n=n+1
    Loop
END FUNCTION

FUNCTION Bifenilo_2()
    if Bifenilo or Bifenilo_1 then Bifenilo_2=true
END FUNCTION

```

**Fluorenos**

```

FUNCTION Fluoreno()
    if (Rank(1)=166) then Fluoreno=true
END FUNCTION

FUNCTION Fluoreno_1()
    n=1
    Do while n<=5
        x=(151+(n*14))
        y=(166+(n*14))
        if x=rank(1) or y=rank(1) then Fluoreno_1=true
        n=n+1
    Loop
END FUNCTION

FUNCTION Fluoreno_2()
    if Fluoreno or Fluoreno_1 then Fluoreno_2=true
END FUNCTION

```

**Triaromáticos**

```

FUNCTION Tri_Aromaticos()
  Tri_Aromaticos =(Rank(1)=178) or Rank(2)=178 or (rank(1)=76 and
rank(2)=152) or (rank(1)=76 and rank(3)=152)
END FUNCTION

```

```

FUNCTION Tri_Aromaticos_1()
n=1
Do while n<=10
z=(178+(n*14))
y=(177+(n*14))
x=(176+(n*14))
w=(175+(n*14))
v=(174+(n*14))
if (z=rank(1) or y=rank(1) or x=rank(1) or w=rank(1) or
v=rank(1)>202) then Tri_Aromaticos_1=true
n=n+1
Loop
END FUNCTION

```

```

FUNCTION Tri_Aromaticos_2()
if Tri_Aromaticos or Tri_Aromaticos_1 then Tri_Aromaticos_2=true
END FUNCTION

```

## Referencias bibliográficas

- [1] M. V. Dabrio, Barcelona: Springer Verlag Ibérica, 2000, pp. 248-249.
- [2] R. Consden, A. H. Gordon y A. P. Martin, *Biochemistry Journal*, vol. 38, pp. 224-232, 1944.
- [3] G. Haugaard y T. D. Kroner, *Journal of American Chemistry Society*, vol. 70, pp. 2135-2137, 1948.
- [4] E. L. Durrum, *Journal of Colloidal Science*, vol. 6, pp. 247-290, 1951.
- [5] J. Janák, «Progress in Thin-Layer Chromatography and Related Methods,» vol. 3, p. 63, 1971.
- [6] Mondello L., de *Comprehensive Chromatography in Combination with Mass Spectrometry*, Wiley, 2011, pp. 93-94.
- [7] Simmons M.C y Snyder L.R., vol. 30, pp. 32-35, 1958.
- [8] Deans D.R, vol. 1, pp. 18-22, 1968.
- [9] J. B. Phillips y K. Liu, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 29, pp. 227-231, 1991.
- [10] F. Wang y L. Zhang, *Energy & Fuels*, vol. 21, pp. 3477-3483, 2007.
- [11] E. Skoczynska, P. Korytar y J. de Boer, *Environmental Science & Technology*, vol. 42, pp. 6611-6618, 2008.
- [12] H. Van de Weghe, G. Vanermen, J. Gemoets, R. Lookman y D. Bertels, *Journal of Chromatography A*, vol. 1137, pp. 91-100, 2006.
- [13] D. Ryan, R. Shellie, P. Tranchida, A. Casilli, L. Mondello y P. Marriott, *Journal of Chromatography A*, vol. 1054, pp. 57-64, 2004.
- [14] L. Mondello, A. Casilli, P. Tranchida, M. L. Presti, P. Dugo y G. Dugo, *Anal Bioanal Chem*, vol. 389, pp. 1755-1763, 2007.
- [15] S. Song, P. Marriott y P. Wynne, *Journal of Chromatography A*, vol. 1058, pp. 223-232, 2004.
- [16] S. Song, P. Marriott, A. Kotsos, O. Drummer y P. Wynne, *Forensic Science International*, vol. 143, pp. 87-101, 2004.
- [17] K. Ralston-Hooper, A. Hopf, C. Oh, X. Zhang, J. Adamec y M. S. Sepulveda, *Aquatic Toxicology*, vol. 88, pp. 48-52, 2008.
- [18] M. Adahchour, J. Beens y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 1186, pp. 67-108, 2008.
- [19] W. Tiyaongpattana, P. Wilairat y P. Marriott, *Journal of Separation Science*, vol. 31, pp. 2640-2649, 2008.
- [20] G. Frysinger y R. Gaines, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 23, pp. 197-201, 2000.
- [21] Giddings J.C, *Analytical Chemistry*, vol. 39, pp. 1027-1028, 1967.
- [22] Poole C.F, «The Essence of Chromatography,» Elsevier, 2003, pp. 56-58.
- [23] Bertsch W., *Journal of Hig Resolution Chromatography*, vol. 22, pp. 647-665, 1999.
- [24] R. Murphy, M. Schure y J. Foley, *Analytical Chemistry*, vol. 70, pp. 1585-1594, 1998.
- [25] J. Giddings, *Journal of Chromatography A*, vol. 703, pp. 3-15, 1995.

- [26] I. Kaplan, Y. Galperin, S. Lu y R. Lee, *Organic Geochemistry*, vol. 27, pp. 289-317, 1997.
- [27] P. Schoenmakers, J. Oomen, J. Blomberg, W. Genuit y G. van Velzen, *Journal of Chromatography A*, vol. 892, pp. 29-46, 2000.
- [28] J. Beens, H. Boelens, R. Tijssen y J. Blomberg, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 21, pp. 47-54, 1998.
- [29] J. Dallüge, J. Beens y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 1000, pp. 69-108, 2003.
- [30] R. van der Westhuizen, M. Ajama, P. de Coninga, J. Beens, A. de Villiers y P. Sandra, *Journal of Chromatography A*, vol. 1218, pp. 4478-4486, 2011.
- [31] J. Dimandja, G. Clouden, I. Colón, J. Focant, W. Cabey y R. Parry, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 261-272, 2003.
- [32] M. Adahchour, J. Beens y U. Brinkman, *Analyst*, vol. 128, pp. 213-216, 2003.
- [33] J. Beens, M. Adahchour, R. Vreuls, K. van Altena y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 919, pp. 127-132, 2001.
- [34] J. Harynuk y T. Górecki, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 53-63, 2003.
- [35] M. Pursch, P. Eckerle, J. Biel, R. Streck, H. Cortes, K. Sun y B. Winniford, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 43-51, 2003.
- [36] A. Lee, C. Lewis, K. Bartle, J. McQuaid and P. Marriott, *Journal of Microcolumn Separation*, vol. 12, pp. 187-193, 2000.
- [37] P. Marriott, R. Kinghorn, R. Ong y P. Morrison, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 23, pp. 253-258, 2000.
- [38] P. Korytar, P. Leonards, J. Boer y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 958, pp. 203-218, 2002.
- [39] H. Weghe, G. Vanermen, J. Gemoets, R. Lookman y D. Bertels, *Journal of Chromatography A*, vol. 1137, pp. 91-100, 2006.
- [40] L. Stee, J. Beens, R. Vreuls y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 89-99, 2003.
- [41] R. Hua, Y. Li, W. Liu, J. Zheng, H. Wei, J. Wang, X. Lu, H. Kong y G. Xu, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 101-109, 2003.
- [42] T. Tran y P. Marriott, *Atmospheric Environment*, vol. 41, pp. 5756-5768, 2007.
- [43] T. Pang, S. Zhu, X. Lu y G. Xu, *Journal of Separation Science*, vol. 30, pp. 868-874, 2007.
- [44] G. Slater, R. Nelson, B. Kile y C. Reddy, *Organic Geochemistry*, vol. 37, pp. 981-989, 2006.
- [45] T. Holm, *Journal of Chromatography A*, vol. 842, pp. 221-227, 1999.
- [46] E. Chen y E. Chen, *Journal of Chromatography A*, vol. 1037, pp. 83-106, 2004.
- [47] M. Adahchour, J. Beens, R. Vreuls y U. Brinkman, *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 25, pp. 821-840, 2006.
- [48] C. von Mühlen, C. Zini, E. Caramao y P. Marriott, *Journal of Chromatography A*, vol. 1105, pp. 39-50, 2006.
- [49] K. van Geem, S. Pyl, M. Reyniers, J. Vercammen, J. Beens y G. Marin, *Journal of Chromatography A*, vol. 1217, pp. 6623-6633, 2010.
- [50] X. Xu, L. van Stee, J. Williams, J. Beens, M. Adahchour, R. Vreuls, U. Brinkman y J.

- Lelieveld, *Atmospheric Chemistry and Physics Discussions*, vol. 3, pp. 1139-1181, 2003.
- [51] R. Shellie, P. Marriott y P. Morrison, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 42, pp. 417-422, 2004.
- [52] C. Cordero, C. Bicchi, D. Joulain y P. Rubiolo, *Journal of Chromatography A*, vol. 1150, pp. 37-49, 2007.
- [53] L. Mondello, A. Casilli, P. Tranchida, G. Dugo y P. Dugo, *Journal of Chromatography A*, vol. 1067, pp. 235-243, 2005.
- [54] T. Górecki, O. Panic y N. Oldridge, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, vol. 29, pp. 1077-1104, 2006.
- [55] M. Kochman, A. Gordin, T. Alon y A. Amirav, *Journal of Chromatography A*, vol. 1129, pp. 95-104, 2006.
- [56] R. Shellie y P. Marriott, *Analyst*, vol. 128, pp. 879-883, 2003.
- [57] R. Shellie, P. Marriott y C. Huie, *Journal of Separation Science*, vol. 26, pp. 1185-1192, 2003.
- [58] G. Purcaro, P. Tranchida, C. Ragonese, C. Lanfranco, P. Dugo, G. Dugo y L. Mondello, *Analytical Chemistry*, vol. 82, pp. 8583-8590, 2010.
- [59] X. Yan, *Journal of Separation Science*, vol. 29, pp. 1931-1945, 2006.
- [60] J. Blomberg, T. Riemersma, M. van Zuijlen y H. Chaabani, *Journal of Chromatography A*, vol. 1050, pp. 77-84, 2004.
- [61] R. Ruiz-Guerrero, C. Vendevre, D. Thiébaud, F. Bertoncini y D. Espinat, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 44, pp. 566-573, 2006.
- [62] F. Wang, W. Robbins, F. di Sanzo y F. McElroy, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 41, pp. 519-523, 2003.
- [63] F. Adam, F. Bertoncini, C. Dartiguelongue, K. Marchand, D. Thiébaud y M. Hennion, *Fuel*, vol. 88, pp. 938-946, 2009.
- [64] F. Adam, F. Bertoncini, N. Brodusch, E. Durand, D. Thiébaud, D. Espinat y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1148, pp. 55-64, 2007.
- [65] C. Zacharis, I. Rotsias, P. Zachariadis y A. Zotos, *Food Chemistry*, vol. 134, pp. 1665-1672, 2012.
- [66] J. Ghasemi, S. Asadpour y A. Abdolmaleki, *Analytica Chimica Acta*, vol. 588, pp. 200-206, 2007.
- [67] H. Fujita, K. Honda, N. Hamada, G. Yasunaga y Y. Fujise, *Chemosphere*, vol. 74, pp. 1069-1078, 2009.
- [68] M. Klee, M. Williams, I. Chang y J. Murphy, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 22, pp. 24-28, 1999.
- [69] E. Kristenson, P. Korytar, C. Danielsson, M. Kallio, M. Brandt, J. Mäkelä, R. Vreuls, J. Beens y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 65-77, 2003.
- [70] M. Harju, A. Bergman, M. Olsson, A. Roos y P. Haglund, *Journal of Chromatography A*, vol. 1019, pp. 127-142, 2003.
- [71] P. Korytar, J. Parera, P. Leonards, F. Santos, J. de Boer y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 1086, pp. 71-82, 2005.
- [72] E. Kristenson, H. Neidig, R. Vreuls y U. Brinkman, *Journal of Separation Science*, vol. 28, pp. 1121-1128, 2005.

- [73] W. Khummueng, C. Trenerry, G. Rose y P. Marriott, *Journal of Chromatography A*, vol. 1131, pp. 203-214, 2006.
- [74] P. Korytar, L. van Stee, P. Leonards, J. de Boer y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 994, pp. 179-189, 2003.
- [75] L. Bordajandi, L. Ramos y M. Gonzalez, *Journal of Chromatography A*, vol. 1125, pp. 220-228, 2006.
- [76] R. Gaines, G. Frysinger, M. Hendrick-Smith y J. Stuart, *Environmental Science & Technology*, vol. 33, pp. 2106-2112, 1999.
- [77] R. Ong y P. Marriott, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 40, pp. 276-291, 2002.
- [78] H. de Geus, J. de Boer, J. Phillips, E. Ledford y U. Brinkman, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 21, pp. 411-413, 1998.
- [79] C. Bruckner, B. Prazen y R. Synovec, *Analytical Chemistry*, vol. 70, pp. 2796-2804, 1998.
- [80] B. Kowalski, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, vol. 15, pp. 201-203, 1975.
- [81] K. Siebert, *The Journal of the American Society of Brewing Chemists*, vol. 59, pp. 147-156, 2001.
- [82] A. Guttman, M. Varoglu y J. Khandurina, *Drug Discovery Today*, vol. 9, pp. 136-144, 2004.
- [83] O. Panic y T. Gorecki, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 386, pp. 1013-1023, 2006.
- [84] P. Tranchida, P. Dugo, G. Dugo y L. Mondello, *Journal of Chromatography A*, vol. 1054, pp. 3-16, 2004.
- [85] J. Blomberg, P. Schoenmakers, J. Beens y R. Tijssen, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 20, pp. 539-544, 1997.
- [86] C. Evans y J. Jorgenson, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 378, pp. 1952-1961, 2004.
- [87] H. Kong, F. Ye, X. Lu, L. Guo, J. Tian y G. Xu, *Journal of Chromatography A*, vol. 1086, pp. 160-164, 2005.
- [88] C. Fraga, B. Prazen y R. Synovec, *Analytical Chemistry*, vol. 72, pp. 4154-4162, 2000.
- [89] A. Sinha, J. Hope, B. Prazen, E. Nilsson, R. Jack y R. Synovec, *Journal of Chromatography A*, vol. 1058, pp. 209-215, 2004.
- [90] A. Sinha, J. Hope, B. Prazen, E. Nilsson, R. Jack y R. Synovec, *Journal of Chromatography A*, vol. 1056, pp. 145-154, 2004.
- [91] H. Lu, W. Dunn, H. Shen, D. Kell y Y. Liang, *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 27, pp. 215-227, 2008.
- [92] K. Johnson y R. Synovec, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, vol. 60, pp. 225-237, 2002.
- [93] V. van Mispelaar, A. Smilde, O. de Noord, J. Blomberg y P. Schoenmakers, *Journal of Chromatography A*, vol. 1096, pp. 156-164, 2005.
- [94] J. de Vos, R. Dixon, G. Vermeulen, P. Gorst-Allman, J. Cochran, E. Rohwer y J. Focant, *Chemosphere*, vol. 82, pp. 1230-1239, 2011.
- [95] L. Vogt, T. Gröger y R. Zimmermann, *Journal of Chromatography A*, vol. 1150, pp. 2-12, 2007.

- [96] J. Beens, J. Blomberg y P. Schoenmakers, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 23, pp. 182-188, 2000.
- [97] M. van Deursen, J. Beens, J. Reijenga, P. Lipman y C. Cramers, *Journal High Resolution Chromatography*, vol. 23, pp. 507-510, 2000.
- [98] C. Vendevre, R. Ruiz-Guerrero, F. Bertoncini, L. Duval, D. Thiébaut y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1086, pp. 21-28, 2005.
- [99] R. Gaines, M. Hendrick-Smith y J. Stuart, *Environmental Science & Technology*, vol. 33, pp. 2106-2112, 1999.
- [100] G. Frysinger y R. Gaines, *Journal of Separation Science*, vol. 24, pp. 87-96, 2001.
- [101] R. Silva, H. Aguiar, M. Rangel, D. Azevedo y F. Aquino, *Fuel*, vol. 90, pp. 2694-2699, 2011.
- [102] C. Vendevre, F. Bertoncini, L. Duval, J. Duplan, D. Thiebaut y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1056, pp. 155-162, 2004.
- [103] J. Dimandja, *American Laboratory*, vol. 35, pp. 42-53, 2003.
- [104] R. Edam, J. Blomberg, H. Janssen y P. Schoenmakers, *Journal of Chromatography A*, vol. 1086, pp. 12-20, 2005.
- [105] C. Vendevre, F. Bertoncini, D. Espinat, D. Thiebaut y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1090, pp. 116-125, 2005.
- [106] R. Nelson, B. Kile, D. Plata, S. Sylva, L. Xu, C. Reddy, R. Gaines, G. Frysinger y S. Reichenbach, *Environmental Forensics*, vol. 7, pp. 33-44, 2006.
- [107] B. Winniford, K. Sun, J. Griffith y J. Luong, *Journal of Separation Science*, vol. 29, pp. 2664-2670, 2006.
- [108] C. Reddy, R. Nelson, S. Sylva, L. Xu, E. Peacock, B. Raghuraman y O. Mullins, *Journal of Chromatography A*, vol. 1148, pp. 100-107, 2007.
- [109] J. Hamilton, A. Lewis, M. Millan, K. Bartle, A. Herod y R. Kandiyoti, *Energy & Fuels*, vol. 21, pp. 286-294, 2007.
- [110] A. Aguiar, A. Silva Jr, D. Azevedo y F. Aquino Neto, *Fuel*, vol. 89, pp. 2760-2768, 2010.
- [111] H. Parastar, J. Radovic, M. Jalali-Heravi, S. Diez, J. Bayona y R. Tauler, *Analytical Chemistry*, vol. 83, pp. 9289-9297, 2011.
- [112] D. Mao, H. van de Weghe, R. Lookman, G. Vanermen, N. de Brucker y L. Diels, *Fuel*, vol. 88, pp. 312-318, 2009.
- [113] C. Eiserbeck, R. Nelson, K. Grice, J. Curiale, C. Reddy y P. Raiteri, *Journal of Chromatography A*, vol. 1218, pp. 5549-5553, 2011.
- [114] V. van Mispelaar, A. Smilde, O. de Noord, J. Blomberg y P. Schoenmakers, *Journal of Chromatography A*, vol. 1096, pp. 156-164, 2005.
- [115] F. Adam, F. Bertoncini, D. Thiebaut, S. Esnault, D. Espinat y M. Hennion, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 45, pp. 643-649, 2007.
- [116] R. van der Westhuizen, A. Crouch y P. Sandra, *Journal of Separation Science*, vol. 31, pp. 3423-3428, 2008.
- [117] F. Adam, C. Vendevre, F. Bertoncini, D. Thiebaut, D. Espinat y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1178, pp. 171-177, 2008.
- [118] F. Adam, D. Thiebaut, F. Bertoncini, M. Courtiade y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1217, pp. 1386-1394, 2010.



- [119] T. Dutriez, F. Adam, F. Bertoncini, H. Dulot, H. Gonzalez-Penas y D. Thiébaud, *Preprints of Papers- American Chemical Society, Division of Petroleum Chemistry*, vol. 53, nº 2, pp. 18-22, 2008.
- [120] T. Dutriez, M. Courtiade, D. Thiébaud, H. Dulot y M. Hennion, *Fuel*, vol. 89, pp. 2338-2345, 2010.
- [121] R. Hua, J. Wang, H. Kong, J. Liu, X. Lu y G. Xu, *Journal of Separation Science*, vol. 27, pp. 691-698, 2004.
- [122] V. van Mispelaar, H. Janssen, A. Tas y P. Schoenmakers, *Journal of Chromatography A*, vol. 1071, pp. 229-237, 2005.
- [123] R. Rosario, V. Colombe, T. Didier, F. Bertoncini y D. Espinat, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 44, pp. 566-573, 2006.
- [124] F. Wang y C. Walters, *Analytical Chemistry*, vol. 79, pp. 5642-5650, 2007.
- [125] F. Wang, W. Robbins, F. di Sanzo y F. McElroy, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 41, pp. 519-523, 2003.
- [126] F. Wang, W. Robbins y M. Greaney, *Journal of Separation Science*, vol. 27, pp. 468-472, 2004.
- [127] C. von Mühlen, E. de Oliveira, P. Morrison, C. Zini, E. Caramao y P. Marriott, *Journal of Separation Science*, vol. 30, pp. 3223-3232, 2007.
- [128] C. Hao, J. Headley, K. Peru, R. Frank, P. Yang y K. Solomon, *Journal of Chromatography A*, vol. 1067, pp. 277-284, 2005.
- [129] F. Adam, F. Bertoncini, V. Coupard, N. Charon, D. Thiébaud, D. Espinat y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1186, pp. 236-244, 2008.
- [130] J. V. Seeley, S. K. Seeley, E. K. Libby y J. D. McCurry, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 45, pp. 650-656, 2007.
- [131] J. Marsman, J. Wildschut, F. Mahfud y H. Heeres, *Journal of Chromatography A*, vol. 1150, pp. 21-27, 2007.
- [132] B. Omais, M. Courtiade, N. Charon, D. Thiébaud, A. Quignard y M. Hennion, *Journal of Chromatography A*, vol. 1218, pp. 3233-3240, 2011.
- [133] J. Seeley, E. Libby, S. Seeley y J. McCurry, *Journal of Separation Science*, vol. 31, pp. 3337-3346, 2008.
- [134] T. Grobler, M. Claeys, E. van Steen y M. van Vuuren, *Catalysis Communications*, vol. 10, pp. 1674-1680, 2009.
- [135] F. Ma y M. A. Hanna, *Bioresource Technology*, vol. 70, pp. 1-15, 1999.
- [136] «Special Airworthiness information bulletin 4,» 2009.
- [137] Defence, Ministry of, «Defence Standard 91-91,6,» 2008.
- [138] Authority, Civil Aviation, «IN-2012/116».
- [139] I. PM-DY/09, «Determination of fatty acid methyl esters, derived from bio-diesel fuel, in aviation turbine fuel- GC-MS with selective ion monitoring/scan detection method».
- [140] I. 585/10, «Determination of fatty acid methyl esters, derived from bio-diesel fuel, in aviation turbine fuel- GC-MS with selective ion monitoring/scan detection method».
- [141] J. V. Seeley, C. T. Bates, J. D. McCurry y S. K. Seeley, *Journal of Chromatography A*, vol. 1226, pp. 103-109, 2012.
- [142] J. Dallüge, R. Vreuls, J. Beens y U. Brinkman, *Journal of Separation Science*, vol. 25, pp. 201-214, 2002.

- [143] P. Marriott y R. Shellie, *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 21, pp. 573-583, 2008.
- [144] E. Dodds, M. McCoy, L. Rea y J. Kennisha, *Lipids*, vol. 2005, pp. 419-428, 40.
- [145] R. Shellie, P. Marriott, P. Morrison y L. Mondello, *Journal of Separation Science*, vol. 27, pp. 503-512, 2004.
- [146] D2425. ASTM, "Standard test method for hydrocarbon types in middle distillates by Mass spectrometry".
- [147] D2549. ASTM, "Test method for separation of representative aromatics and nonaromatics fractions of high-boiling oils by elution chromatography".
- [148] P. van Arkel, J. Beens, H. Spaas, D. Grutterink and R. Verbek, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 25, pp. 141-148, 1987.
- [149] R. Van der Westhuizen, M. Ajama, P. De Coninga, J. Beens, A. De Villiers y P. Sandra, *Journal of Chromatography A*, vol. 1218, p. 4478, 2011.
- [150] Y. Briker, Z. Ring, A. Iacchelli y N. McLean, *Fuel*, vol. 82, pp. 1621-1631, 2003.
- [151] X. Cheng, T. Zhao, X. Fu y Z. Hu, *Fuel Processing Technology*, vol. 85, pp. 1463-1472, 2004.
- [152] T. Beesley, *LCGC North America*, vol. 29/7, 2011.
- [153] IP 548/06, D6591. ASTM, «Determination of Aromatic Hydrocarbon Types in Middle Distillates. High Performance Liquid Chromatography Method with Refractive Index Detection.».
- [154] D. Mao, R. Lookman, H. van de Weghe, D. van Look, G. Vanermen, N. de Brucker y L. Diels, *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, pp. 1524-1527, 2009.
- [155] CEN/TR 15522-2, «Oil spill identification-Waterborne petroleum and petroleum products-Part 2: Analytical methodology and interpretation of results».
- [156] D1159. ASTM, «Standard test method for bromine numbers of petroleum distillates and commercial aliphatic olefins by electrometric titration».
- [157] D1319. ASTM, «Standard test method for hydrocarbon types in liquid petroleum products by fluorescent indicator adsorption».
- [158] L. Morris, *Chemistry & Industry (London)*, pp. 1238-1240, 1962.
- [159] B. de Vries, *Chemistry & Industry (London)*, pp. 1049-1050, 1962.
- [160] S. Momchilova y B. Nikolova-Damyanova, *Journal of Separation Science*, vol. 26, pp. 261-270, 2003.
- [161] W. Christie, *Journal of High Resolution Chromatography*, vol. 10, pp. 148-150, 1987.
- [162] M. Dorbon y C. Bernasconi, *Fuel*, vol. 68, pp. 1067-1074, 1989.
- [163] Chan, L., Ellis, J. y P. Crisp, *Journal of Chromatography A*, vol. 292, pp. 355-368, 1984.
- [164] H. Chuen-Huei, B. Clark, M. Guerin, B. Barkenbus, T. Rao y J. Epler, *Mutation Research*, vol. 85, pp. 335-345, 1981.
- [165] R. Brodzinsky, B. Cantrell, R. Endlich y C. Bhumralkar, *Atmospheric Environment*, vol. 18, pp. 2361-2366, 1984.
- [166] P. Zeuthen, K. Knudsen y D. Whitehurst, *Catalysis Today*, vol. 65, pp. 307-314, 2001.
- [167] G. Laredo, J. de los Reyes, J. Cano y J. Castillo, *Applied Catalysis A*, vol. 207, pp. 103-112, 2001.
- [168] P. Wiwel, K. Knudsen, P. Zeuthen y D. Whitehurst, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 39, pp. 533-540, 2000.

- [169] G. Mushrush, E. Beal, D. Hardy y J. Hughes, *Fuel Processing Technology*, vol. 61, pp. 197-210, 1999.
- [170] B. Chawla, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 35, pp. 97-104, 1997.
- [171] W. Yu, D. Fine, K. Chiu y K. Biemann, *Analytical Chemistry*, vol. 56, pp. 1158-1162, 1984.
- [172] D4629. ASTM, «Standard Test Method for Trace Nitrogen in Liquid Petroleum Hydrocarbons by Syringe/Inlet Oxidative Combustion and Chemiluminescence Detection».
- [173] P. Wiwel, B. Hinnemann, A. Hidalgo-Vivas, P. Zeuthen, B. Petersen y J. Duus, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, vol. 49, pp. 3184-3193, 2010.
- [174] E. Jones, W. Balster y L. Balster, *Journal of Engineering for Gas Turbines and Power*, vol. 119, pp. 830-835, 1997.
- [175] B. Batts y A. Fathoni, *Energy & Fuels*, vol. 5, pp. 2-21, 1991.
- [176] S. Pande y D. Hardy, *Energy & Fuels*, vol. 12, pp. 129-138, 1998.
- [177] A. Waynick, *Energy & Fuels*, vol. 15, pp. 1325-1340, 2001.
- [178] R. Striebich, B. Grinstead y S. Zabarnick, *Journal of Chromatographic Science*, vol. 38, pp. 393-398, 2000.
- [179] H. Hübschmann, «Handbook of GC/MS,» Wiley-VCH, 2009, pp. 129-166.
- [180] C. Vendevre, R. Ruiz-Guerrero, F. Bertoncini, L. Duval y D. Thiébaud, *Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP*, vol. 62, pp. 43-55, 2007.
- [181] L. Hongmei, B. Warwick, S. Hailin, B. Douglas y L. Yizeng, *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 27, pp. 215-227, 2008.
- [182] S. Zhu, *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, pp. 3312-3317, 2009.
- [183] J. Hamilton, P. Webb, A. Lewis, J. Hopkins, S. Smith y P. Davy, *Atmospheric Chemistry and Physics*, vol. 4, pp. 1279-1290, 2004.
- [184] M. Adahchour, J. Beens, R. Vreuls, A. Batenburg y U. Brinkman, *Journal of Chromatography A*, vol. 1054, pp. 47-55, 2004.